



UNIVERSIDAD DE CANTABRIA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y PSIQUIATRÍA

**ESTUDIO INTRAMURAL DE FASE II DE QUIMIOTERAPIA
NEOADYUVANTE CON SALES DE PLATINO, DOXORRUBICINA
Y TAXANOS EN CÁNCER DE MAMA OPERABLE.
EXPERIENCIA DEL SERVICIO DE ONCOLOGÍA MÉDICA DEL
HOSPITAL UNIVERSITARIO MARQUÉS DE VALDECILLA**

Tesis doctoral para optar al grado de doctor presentada por

ANA DE JUAN FERRÉ

Director: José Manuel López Vega

Codirectora: Marta María Mayorga Fernández

Santander, Enero 2016



Facultad de Medicina

Departamento de Medicina y Psiquiatría

Don José Manuel López Vega, Doctor en Medicina por la Universidad Complutense de Madrid y D^a Marta María Mayorga Fernández, Doctora en Medicina por la Universidad de Cantabria,

CERTIFICA:

Que el trabajo titulado: “Estudio intramural de fase II de quimioterapia neoadyuvante con sales de platino, doxorubicina y taxanos en cáncer de mama operable. Experiencia del Servicio de Oncología Médica del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla” que presenta la Licenciada en Medicina D^a Ana de Juan Ferré, ha sido realizado bajo su dirección y reúne, a su juicio, la originalidad y contenidos suficientes para que pueda ser defendido y opte al Grado de Doctor por la Universidad de Cantabria.

Para que así conste, y a los efectos oportunos, firman la presente, en Santander, a 26 de Enero de 2016.

Dr. José Manuel López Vega

Dra. Marta María Mayorga Fernández

“Conozca todas las teorías; domine todas las técnicas,
pero al tocar un alma humana sea apenas otra alma humana”

Carl Gustav Jung

“Es hora de comprender más y temer menos”

Marie Curie

Agradecimientos

Un trabajo que empieza tantos años atrás convive con muchas personas que han contribuido de diversas formas. Agradezco a todos los que me han acompañado en este reto personal. Sin ellos, sin su aliento, su respeto y comprensión esta investigación podría, simplemente, no existir.

A mis directores de tesis, al Dr. José Manuel López Vega, mentor científico, compañero y guía a lo largo de toda mi trayectoria profesional. No podía imaginar mi tesis sin su sello. Y naturalmente a la Dra. Marta Mayorga por sus ánimos, implicación y motivación que han permitido que este trabajo salga adelante. También ha sido su segunda tesis.

A la Dra. Pilar Alonso, por su contribución y ayuda. Igualmente al resto del equipo del Servicio de Radiodiagnóstico por sus ánimos y orientación.

A la Dra. Teresa Azcarretazabal del Servicio de Anatomía Patológica del H. de Sierrallana por su colaboración desinteresada los jueves por la tarde.

Al Dr. Pedro Muñoz por su disponibilidad, tesón y minuciosidad. Y por prestarme en un momento crucial su “Navaja de Ockham”.

Al todo el Servicio de Oncología Médica por el esfuerzo colectivo. Al Dr. Jaime Sanz Ortiz mi primer director de tesis, y al Dr. Fernando Rivera por facilitar este último empujón. A los residentes y adjuntos por su ayuda en la recogida de datos y en la cobertura asistencial. Especialmente al Dr. Miguel Quintana, a la Dra. Elena Mata, a la Dra. Carmen Hinojo y a la Dra. Maitane Múgica que han sido claves en distintas fases de este proyecto. A Elena García por ayudarme a recopilar las historias clínicas. A los cafés oncológicos “sin oncología”, por darme un respiro. Al Dr. Javier Anchuelo por su cercanía y ayuda. A Noelia Palacio, por su ratitos compartidos tras las sesiones.

A los Dres. Virginia Martínez y Juanjo Martínez por ayudarme a rescatar casos pendientes desde Farmacia Hospitalaria.

Al Servicio de Anatomía Patológica del H. U. Marqués de Valdecilla, a todos los que han colaborado en este trabajo, y especialmente, a la Dra. Francisca Garijo, un referente por su pasión, dedicación profesional y por tantos años compartidos.

A las Dras. Lourdes Calvo, Yolanda Jubete y Carmen Valero por su estímulo en momentos críticos en que este proyecto podría haber quedado aparcado.

A mis amigos por transmitirme optimismo y confianza y por sus mensajes de ánimo y cariño. A Raúl, a Lucía y a Bet que son mi familia en Santander por estar siempre ahí.

A mis padres, por su dedicación incondicional y generosidad. Por los valores que me han entregado. A mis hermanos, cuñados y sobrinos por constituir un verdadero equipo motivacional. A toda mi familia, a la que elegiría una y mil veces.

A las pacientes y sus familias, objetivo primero y último de la tesis, por permitirme acercarme a sus vidas, a sus alegrías y a su dolor y así proporcionarme unos ojos nuevos para la vida.

Índice

ÍNDICE

0. Listado de Abreviaturas	I
1. Introducción	1
1.1. Epidemiología.....	1
1.2. Diagnóstico.....	2
1.3. Pronóstico y factores predictores.....	5
1.4. Estadificación.....	6
1.5. Fenotipos tumorales.....	7
1.5.1. Luminal A y B.....	8
1.5.2. HER2	9
1.5.3. Triple negativo	9
1.6. Tratamiento.....	13
1.6.1. Tratamiento local	13
1.6.2. Tratamiento adyuvante sistémico	14
2. Quimioterapia neoadyuvante (QTNA) del cáncer de mama.....	19
2.1. Principales estudios publicados	19
2.1.1. Estudios con antraciclinas	19
2.1.2. Estudios con taxanos.....	20
2.1.3. Estudios que incorporan terapias biológicas	24
2.2. Evaluación de la respuesta	28
2.2.1. Respuesta clínica y radiológica	28
2.2.2. Respuesta anatomo-patológica	28
2.3. Factores predictores de RCP.....	29
2.3.1. Respuesta en función del patrón histológico	30
2.3.2. Respuestas en función del fenotipo tumoral.....	31
3. Descripción del proyecto	35
3.1. Controversia en los métodos de evaluación de respuesta.....	35
3.2. Justificación del esquema de quimioterapia.....	36
3.3. Justificación del proyecto.....	40
3.4. Hipótesis	46

3.5. Objetivos	48
4. Pacientes y métodos	51
4.1. Criterios de inclusión	51
4.2. Criterios de exclusión	51
4.3. Variables analizadas	51
4.4. Consideraciones técnicas	52
4.4.1. De los estudios radiológicos	52
4.4.2. De los estudios patológicos	56
4.5. Determinación de los fenotipos tumorales	70
4.6. Clasificación de los tumores triple negativos	70
4.7. Evaluación de la Infiltración Linfocitaria Tumoral (TIL)	71
4.8. Plan terapéutico	72
4.9. Evaluación de respuesta	74
4.9.1. Clínica y radiológica.....	75
4.9.2. Anatómo-patológica.....	75
4.10. Consideraciones prácticas y estadísticas	79
5. Resultados	83
5.1. Características de las pacientes y de los tumores	83
5.2. Quimioterapia	90
5.2.1. Toxicidades.....	90
5.2.2. Cumplimiento	91
5.3. Respuesta clínica y radiológica	92
5.4. Cirugía	98
5.5. Respuesta anatómo-patológica	100
5.5.1. Respuesta anatómo-patológica según fenotipos.....	111
5.5.2. Comparación RCR y RCP	111
5.5.3. Factores predictores de RCP: Análisis univariante y multivariante	113
5.6. Radioterapia, hormonoterapia y trastuzumab	121
5.7. Otros datos histológicos	122
5.8. Supervivencia	123
5.8.1. Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global.....	123

5.8.2. Factores pronósticos: Análisis univariante y multivariante	127
5.8.3. Comparación de los sistemas de evaluación de respuesta anatomo-patológica	137
5.9. Análisis específico de la población triple negativa	139
5.9.1. Características de las pacientes y de los tumores	139
5.9.2. Tratamientos aplicados.....	143
5.9.3. Respuestas.....	143
5.9.4. Supervivencia	146
5.9.5. Clasificación de los tumores triples negativos	149
5.10. Análisis específico de los TIL	151
5.10.1. Descripción de los TIL en la serie.....	151
5.10.2. TIL y respuesta completa anatomo-patológica.....	154
5.10.3. TIL y supervivencia	157
5.10.4. Análisis de TIL en la población triple negativa.....	158
6. Discusión y comentarios	161
6.1. Características de las pacientes y de los tumores	161
6.2. Quimioterapia	164
6.3. Respuestas clínicas y radiológicas.....	167
6.4. Cirugía.....	168
6.5. Respuesta anatomo-patológica.....	170
6.5.1. Respuesta anatomo-patológica según fenotipo	174
6.5.2. Comparación RCR y RCP	178
6.5.3. Factores predictores de RCP: Análisis univariante y multivariante	179
6.6. Radioterapia, hormonoterapia y trastuzumab.....	183
6.7. Otros datos histológicos.....	183
6.8. Supervivencia.....	184
6.8.1. Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global.....	184
6.8.2. Factores pronósticos: Análisis univariante y multivariante	185
6.8.3. Comparación de los sistemas de evaluación de respuesta anatomo-patológica	190
6.9. Análisis específico de la población triple negativa	192
6.9.1. Características de las pacientes y de los tumores	192

6.9.2. Tratamientos aplicados.....	196
6.9.3. Respuestas.....	197
6.9.4. Supervivencia	202
6.9.5. Clasificación de la población TN.....	203
6.10. Análisis específico de los TILs	207
6.10.1.Análisis de los TILs en la serie	207
6.10.2.TILs y respuesta completa anatómico-patológica	208
6.10.3.TILs y supervivencia	211
6.10.4.Análisis de TILs en la población triple negativa	212
7. Conclusiones	217
8. Índice de tablas y figuras	221
8.1. Índice de tablas	221
8.2. Índice de figuras.....	225
9. Anexos	233
10. Bibliografía	253

Listado de abreviaturas

0. Listado de Abreviaturas

- **A ó ADR:** Doxorubicina
- **AC:** Doxorubicina y ciclofosfamida en combinación
- **AT:** Doxorubicina y taxano (docetaxel o paclitaxel), en combinación
- **AUC:** *Area under curve* (área bajo la curva)
- **BL1:** *Basal like 1*
- **BL2:** *Basal like 2*
- **BLIA:** *Basal like* inmuno-activo
- **BLIS:** *Basal like* inmuno-suprimido
- **CDDP:** Cisplatino
- **CDIS o CIS:** Carcinoma ductal *in situ* o carcinoma intraductal
- **CM:** Cáncer de mama
- **CMF:** Ciclofosfamida, metotrexato y 5-fluorouracilo en combinación
- **CMTN:** Cáncer de mama triple negativo
- **CTLA-4:** *Cytotoxic T Lymphocyte Antigen 4* (antígeno 4 del linfocito T citotóxico)
- **CVAP:** Ciclofosfamida, vincristina, doxorubicina y prednisolona en combinación
- **DD:** Densidad de dosis
- **DPD:** Dihidropirimidina deshidrogenasa
- **EC:** Epirubicina y ciclofosfamida
- **ECisF:** Epirubicina, cisplatino y 5-fluorouracilo
- **EGFR:** Epidermal Growth Factor Receptor (receptor del factor de crecimiento epidérmico)
- **EPP:** Eritrodisestesia palmo plantar
- **FAC:** 5-fluorouracilo, doxorubicina y ciclofosfamida en combinación
- **FEC:** 5- Fluorouracilo, epirubicina y ciclofosfamida en combinación
- **FOXP3:** *Forkhead box 3*
- **Gem:** Gemcitabina
- **GN:** Grado nuclear

- **HE:** Hematoxilina-eosina
- **HER2:** *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2* (receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano)
- **HIS:** Hibridación *in situ*
- **HTA:** Hipertensión
- **IC:** Intervalo de confianza
- **ID:** Intensidad de dosis
- **IGF:** *Insulin growth factor* (factor de crecimiento insulínico)
- **IHQ:** Inmunohistoquímica
- **IM:** Inmunomodulador
- **IMC:** Índice de masa corporal
- **IRM:** Imagen por resonancia magnética
- **LAR:** *Luminal androgen receptor* (receptor androgénico luminal)
- **LHRH:** *Luteinizing Hormone Releasing Hormone* (hormona liberadora de la hormona luteinizante)
- **LPBC:** *Lymphocyte-Predominant Breast Cancer* (cáncer de mama con predominio linfocítico)
- **M o MES:** *Mesenchymal* (mesenquimal)
- **MSL:** *Mesenchymal stem like* (mesenquimal células madres)
- **OR:** Odds ratio
- **P:** Probabilidad
- **p25:** Percentil 25
- **p75:** Percentil 75
- **pág:** Página
- **PD-1:** *Programmed cell Death protein 1* (proteína de muerte celular programada 1)
- **PD-L1:** *Programmed cell Death 1 Ligand* (ligando de proteína de muerte celular programada 1)
- **QT:** Quimioterapia
- **QTNA:** Quimioterapia neoadyuvante
- **RA:** Receptor androgénico
- **RCB:** *Residual Cancer Burden* (carga tumoral residual)

- **RCP:** Respuesta completa anatómo-patológica
- **RCR:** Respuesta completa radiológica
- **RDBN:** *Residual disease in breast and nodes* (enfermedad residual en mama y ganglios)
- **RE:** Receptor de estradiol
- **RH:** Receptores hormonales
- **ROC:** *Receiver Operating Characteristic* (característica operativa del receptor)
- **RP:** Receptor de progesterona
- **RPCB:** *Residual Proliferative Cancer Burden* (carga tumoral proliferativa residual)
- **RT:** Radioterapia
- **SG:** Supervivencia global
- **SLE:** Supervivencia libre de enfermedad
- **SPR:** *Strong partial response* (respuesta parcial brillante)
- **STAT1:** *Signal Transducer and Activator of Transcription 1* (transductor de señal y activadores de transcripción)
- **THS:** Terapia hormonal sustitutiva
- **TEM:** Transición de epitelio a mesénquima
- **TGF- β 1:** *Transforming growth factor beta 1* (factor de crecimiento transformante beta 1)
- **TIL:** *Tumor-Infiltrating Lymphocytes* (infiltrado linfocitario tumoral)
- **TN:** Triple negativo
- **Tregs:** Células T reguladoras
- **TRR:** *Tumoral response ratio* (tasa de respuesta tumoral)
- **WPR:** *Weak partial response* (respuesta parcial débil)

Introducción

1. Introducción

1.1. Epidemiología

El cáncer de mama (CM) constituye uno de los principales problemas de salud en España, tanto por su incidencia creciente, como por su mortalidad. Se diagnostican unos 26.000 casos nuevos al año y unas 6.000 mujeres fallecen por esta enfermedad¹. En los últimos años ha descendido la mortalidad²⁻⁴, gracias a los programas de detección precoz y a la mejora de los tratamientos. Sin embargo, es la segunda causa de muerte, detrás de las de origen cardiovascular, y es la primera si atendemos a los años potenciales de vida perdidos. La mayoría de los casos se diagnostican entre los 35 y los 80 años de edad, con máxima incidencia entre los 45 y los 65 años.

En Cantabria, según el Registro Regional de Tumores⁵, la incidencia es de 239 casos y lo sitúa como el tumor más frecuentemente diagnosticado en la mujer, por delante del cáncer de colon y de los tumores pélvicos. En el período 1997-2011, la incidencia y la mortalidad han permanecido estables.

Un tercio de los casos de CM se diagnostica en países desarrollados⁶. La alta incidencia que se registra en ellos obedece en parte al diagnóstico precoz y a la longevidad de la población femenina, pero además se han definido varios factores de riesgo relacionados con hábitos de vida. Entre otros, se citan la obesidad, el sedentarismo, una dieta excesivamente rica en grasas, el consumo excesivo de alcohol, la menarquia precoz, el retraso en la edad del primer embarazo, una disminución de la paridad, la ausencia de lactancia materna o que ésta sea de corta duración, el uso de anticonceptivos orales y los tratamientos hormonales sustitutivos⁷. Se cree que estos factores influyen directa o indirectamente en la síntesis de estradiol y en la exposición de la glándula mamaria a un estímulo hormonal continuado.

Casi todos los CM son esporádicos. Solo alrededor del 5% se asocian a mutaciones germinales, por ejemplo de los genes BRCA1 y BRCA2 que originan el síndrome de CM y cáncer de ovario hereditarios⁸.

1.2. Diagnóstico

El diagnóstico definitivo del CM es histopatológico, a partir de una sospecha clínica (tumor palpable) o de una lesión detectada por estudios radiológicos. La mamografía, convencional o digital, es la técnica de elección en el diagnóstico del CM, tanto en los programas de detección precoz como en el proceso diagnóstico de una tumoración mamaria.

La ecografía mamaria es una técnica de segundo nivel. Sin embargo, está adquiriendo más protagonismo la imagen por resonancia magnética (IRM) en el diagnóstico y el enfoque terapéutico del CM. El grupo de trabajo EUSOMA (European Society of Breast Cancer Specialists)^{9,10} ha acordado las siguientes indicaciones de la IRM en CM:

- Cribado de mujeres con historia familiar de alto riesgo.
- Evaluación de respuesta al tratamiento neoadyuvante o preoperatorio.
- Evaluación de la paciente con prótesis de mama.
- Estudio de un cáncer de mama oculto.
- Sospecha de recaída tumoral.

La IRM permite descartar multifocalidad y bilateralidad y, además, define mejor que la mamografía la persistencia de tumor residual después de un tratamiento preoperatorio. De hecho los estudios dinámicos con IRM arrojan curvas de captación de contraste paramagnético que poseen la capacidad de discriminar entre fibrosis residual y tumor viable, en el seno de cambios persistentes después de una quimioterapia preoperatoria^{11,12}. Además, la respuesta a quimioterapia neoadyuvante (QTNA) evaluada por IRM, es un buen predictor de respuesta completa anatómo-patológica (RCP)¹³ y existe una buena

correlación entre el diámetro tumoral estimado por IRM y luego por el patólogo¹⁴.

Con todo, es la biopsia de una tumoración sospechosa (palpable o no) la que demuestra o descarta un carcinoma infiltrante. Además, establece el tipo histológico, si hay o no lesiones premalignas acompañantes, el grado de diferenciación y otros marcadores moleculares (receptores hormonales, proteína HER2, índice de proliferación, etc) que van a condicionar el enfoque pronóstico y terapéutico.

Los patrones ductal y lobulillar constituyen hasta el 85% de los CM. Los tipos histológicos dan información valiosa acerca del comportamiento tumoral, por ejemplo alertando del riesgo de multifocalidad y bilateralidad en los tumores lobulillares, o indicando un especial buen pronóstico en las histologías tubular, cribiforme y mucinosa.

El grado histológico o de diferenciación indica la similitud de las células tumorales respecto a las normales del mismo tejido. La clasificación clásica de Scarff-Bloom-Richardson ha dado lugar a la más extendida de Elston y Ellis¹⁵ (**Anexo 1**), que evalúa la formación de túbulos, el pleomorfismo nuclear y la actividad mitótica.

El grado nuclear (GN) es una descripción de las características morfológicas (diámetro y forma) de los núcleos de las células tumorales. El sistema de gradación más utilizado es el descrito por Black¹⁶, que establece 3 categorías con numeraciones en secuencia inversa a las del grado histológico.

La estimación del índice proliferativo es factible con varias técnicas: índice mitótico, expresión de ciclinas, índice de captación de timidina y expresión de Ki-67 entre otros. Precisamente la medición de la proteína Ki-67, involucrada en el ciclo celular, es uno de los más recomendados¹⁷ y en publicaciones recientes se estipula cómo determinarla y cuáles son sus implicaciones en el

pronóstico y la predicción de respuesta o resistencia a quimioterapia u hormonoterapia¹⁸.

El receptor de estradiol (RE) y el receptor de progesterona (RP) pertenecen a la superfamilia de receptores hormonales nucleares, al igual que el receptor androgénico (RA) y el receptor de retinoides. El ligando les alcanza en el citoplasma y condiciona su dimerización y traslocación al núcleo, dónde actúan como factores transcripcionales. Se han descrito dos tipos de RE: el receptor alfa (RE α) y el receptor beta (RE β). Ambos, codificados por genes distintos y con distinta secuencia de aminoácidos, con una homología de apenas el 50%, mantienen en cambio los mismos dominios funcionales, uno para la unión al estradiol, otro para la unión al ADN y dos para la activación de factores transcripcionales. También se han descrito dos isoformas del RP, RP/A y RP/B, que comparten dominios estructurales pero ejercen efectos fisiológicos distintos.

Los tumores que expresan RE suelen estar bien diferenciados, con índice proliferativo bajo y dotación diploide. Además, en general no portan mutaciones, pérdidas o amplificaciones de genes como p53, EGFR o erbB2/neu, todos ellos asociados a mal pronóstico. EL RP es un gen regulado por los estradiol, por lo que la mayoría de los CM que expresan RE son también identificables por el RP¹⁹. Sin embargo, el RP posee un valor pronóstico independiente: la presencia de RE con ausencia del RP identifica un CM más agresivo²⁰.

Una dificultad estriba en definir cuándo se considera “positivo” un receptor hormonal. Inicialmente se consideró la positividad cuando las células inmunoreactivas superaban el 10%, pero las últimas comunicaciones consideran un RE o RP negativo solo cuando se expresa en menos del 1% de las células²¹. Basta que haya al menos un 1% de células teñidas para suponer que existe cierta hormono-sensibilidad y en consecuencia para indicar una terapia de bloqueo hormonal²².

El gen erbB2/neu codifica una glucoproteína de 185 kDa, llamada HER2, que pertenece a la familia del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). Es una proteína de membrana presente en algunos tejidos normales, pero en ínfima cantidad. Aproximadamente un 15-20% de los cánceres de mama la sobreexpresan -casi siempre porque su gen está amplificado- y esto les confiere mayor capacidad proliferativa y peor pronóstico. Las guías internacionales^{23,24} especifican cómo determinar la expresión proteica o la amplificación génica, para que sean fiables y reproducibles.

1.3. Pronóstico y factores predictores

Los factores pronósticos son aquellos que proporcionan información sobre la probabilidad de recaída o muerte por CM, independientemente del tratamiento que se le aplique. Parámetros como el diámetro tumoral, la afectación de ganglios linfáticos, la invasión vascular, el grado histológico y nuclear, así como la expresión de receptores hormonales y HER2 se encuentran entre los más reconocidos (**Tabla 1**).

Por otra parte, existen factores llamados predictores que nos informan sobre la probabilidad de respuesta a cierto tratamiento. Así, la sobreexpresión de la proteína HER2 predice buena respuesta a trastuzumab y la expresión de receptores hormonales indica alta probabilidad de que sea eficaz alguna forma de bloqueo hormonal.

Tabla 1. Factores pronósticos y predictores del CM

Factores Pronósticos	Factores Predictores
Diámetro tumoral	
Afectación de ganglios linfáticos	
Tipo histológico	
Grado histológico/nuclear	Receptores hormonales
Invasión vascular	Proteína HER2
Receptores hormonales	
Proteína HER2	
Índice de proliferación (Ki-67)	

Con arreglo a estos factores se decide qué pacientes requieren tratamiento por su peor pronóstico y qué tratamientos son de elección en cada caso. Diversas guías^{17,25} y modelos matemáticos (www.adjuvantonline.com) han venido utilizándolos para elegir opciones terapéuticas e individualizar el tratamiento del CM. Sin embargo, no ofrecen absoluta exactitud y algunas pacientes con criterios “favorables” recaen, mientras otras con criterios “desfavorables” nunca lo hacen. Por ello, se han desarrollado tecnologías cuyo objetivo es afinar la predicción de recaída o de respuesta a un determinado tratamiento. Los perfiles de expresión génica como Symphony®, Oncotype® y Prosigna® son los ejemplos más representativos y se están incorporando paulatinamente a la práctica clínica habitual²⁶.

1.4. Estadificación

El sistema de estadificación para el CM más utilizado es la clasificación TNM, adoptada en 1989 por el American Joint Committee on Cancer (AJCC) y la International Union Against Cancer (IUAC), y revisada en 2006²⁷. Actualmente está en boga una 7ª edición, donde por características clínicas y anatomo-

patológicas se definen un estatus TNM clínico y un TNM patológico (**Anexo 2**). El **Anexo 3** resume los estadios al uso.

1.5. Fenotipos tumorales

Análisis bioinformáticos de expresión multigénica jerarquizada dan lugar a la identificación de varios subtipos “intrínsecos” de CM (luminal A y B, HER2 y triple negativo)^{28,29}, lo que significa una revolución taxonómica con implicaciones pronósticas y terapéuticas. De hecho, el CM ya no se considera una enfermedad única, sino un conjunto de procesos con distintas aberraciones moleculares, respuesta al tratamiento y conducta biológica. No obstante, los perfiles multigénicos no están disponibles de forma rutinaria y vienen siendo parcialmente sustituidos por la determinación de proteínas por inmunohistoquímica (IHQ). Con ella se realiza una clasificación molecular, más informativa que las basadas en factores anatómicos como el diámetro tumoral o la afectación de linfáticos axilares. Varias guías internacionales definen cómo determinar con fiabilidad las proteínas clave (receptores hormonales, HER2 y Ki-67)^{18,21,24} y así catalogar los fenotipos que aparecen en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Definición clínico y anatomo-patológico de subtipos tumorales¹⁷

Subtipo intrínseco	Fenotipo clínico y anatomo-patológico por IHQ
Luminal A	Luminal A RE positivo y/o RP positivo, HER2 negativa, Ki-67 < 20% (*)
Luminal B	Luminal B (HER2 negativo) RE positivo y/o RP positivo, HER2 negativa, Ki-67 ≥ 20% (*)
	Luminal B (HER2 positivo) RE positivo y/o RP positivo, HER2 positiva, cualquier Ki-67
HER2	HER2 positivo (no luminal) RE negativo y RP negativo, HER2 positiva
Basal	Triple negativo RE, RP y HER2 negativos
(*) Otros autores establecen un umbral de 10-14% ³⁰	

Cada fenotipo tiene un comportamiento evolutivo característico, por ejemplo en cuanto al curso temporal y la localización de las recaídas³¹. En las pacientes con tumores hormono-sensibles, la probabilidad de recaída es constante a lo largo del tiempo (incluso continúa más allá de los 15 años de seguimiento) y el hueso es el principal órgano de asiento metastásico. En cambio, los tumores que no expresan receptores hormonales suelen recaer en los 5 primeros años, más bien con metástasis viscerales, por ejemplo en hígado o cerebro.

1.5.1. Luminal A y B

El subtipo luminal supone el 70% de los tumores mamarios y la expresión de RE es su rasgo biológico esencial. La variante luminal A presenta fuerte hormonosensibilidad y buen pronóstico. Por el contrario, el fenotipo B entraña menos hormonosensibilidad y mayor probabilidad de recaída. Un problema para distinguir ambos fenotipos estriba en el punto de corte de la proteína Ki-

67. Su presencia en menos del 20% de las células tumorales apunta a un fenotipo luminal A¹⁷. Algunos trabajos, sin embargo, definen este subtipo con Ki-67 por debajo del 10-14%³⁰.

El tumor luminal B puede expresar la proteína HER2 (o tener su gen amplificado). La presencia de HER2 distingue dos formas dentro del fenotipo luminal B con diferente evolución e implicaciones terapéuticas³¹.

1.5.2. HER2

La abundancia de esta proteína en la membrana de ciertos CM implica un fuerte estímulo proliferativo y una agresividad que se refleja en ausencia de expresión de receptores hormonales, alto grado, mitosis frecuentes y un empeoramiento de todos los parámetros de supervivencia independientemente del diámetro tumoral o la afectación de ganglios linfáticos.

Sin embargo, la proteína HER2 predice sensibilidad a fármacos que la bloquean selectivamente y a quimioterapia^{32,33}. Combinando ambas terapias, se ha modificado la historia natural de este fenotipo, que hoy alcanza supervivencias semejantes a las de fenotipos sin la proteína³⁴.

1.5.3. Triple negativo

Es el perfil de aproximadamente un 15% de los CM. Se define cuando no hay expresión de RE, RP ni HER2. Se trata de un tumor heterogéneo, que engloba desde neoplasias basales -con un pronóstico muy desfavorable- hasta tumores que ni siquiera requieren tratamiento sistémico, como los carcinomas apocrino, medular, secretor, adenoide quístico y metaplásico de bajo grado³⁵.

Los términos “basal” y “triple negativo” no son equivalentes. Así, Bertucci *et al.*³⁶, comunican que el 71% de los tumores triples negativos son realmente

basales (desde el punto de vista genómico), mientras que el 77% de los tumores basales son triple negativo (en términos de IHQ). Ciñéndonos a los CM estrictamente basales, cabe señalar algunas peculiaridades clínicas:

- Se diagnostican a edad más temprana.
- Propenden a manifestarse como cánceres de intervalo³⁷, es decir se diagnostican en el intervalo teórico entre sendas mamografías de despistaje.
- Se descubren en etapas más avanzadas, incluso en estadio III (20%).
- No conservan correlación entre el diámetro y la afectación ganglionar.
- Comportan pronóstico desfavorable: tienen mayor riesgo de recaída, sobre todo visceral, que suele ocurrir en los 3 primeros años de seguimiento³⁸.

Desde el punto de vista morfológico y molecular, son tumores de alto grado nuclear y elevado índice mitótico. Suelen expresar genes del epitelio basal normal, como las citoqueratinas 5/6 y 17. Exhiben expresión de EGFR más de la mitad de ellos y asimismo se detectan mutaciones de p53 en un 40-80% de los casos. Por último, expresan a menudo genes de proliferación celular (Ki-67 y topoisomerasa II). La mayoría de los cánceres de mama que aparecen entre portadoras de mutaciones BRCA1 son de tipo basal. La **Tabla 3** resume los rasgos clínicos, morfológicos y moleculares propios del fenotipo basal.

Tabla 3. Características clínicas, morfológicas y moleculares del subtipo basal (modificado de Rastelli *et al.*³⁹)

Rasgos clínicos	Apariencia morfológica	Observaciones moleculares
Etapa premenopáusica		
Alta paridad	Grado 3	RE/RP negativos
Primer embarazo en edad joven	Proliferación alta	HER2 negativa
Etnia negra y sudamericana	Pleomorfismo nuclear	CK 5/6 positiva
Bajo nivel socioeconómico	Margen expansivo	EGFR positivo
Cáncer de intervalo	Necrosis geográfica	Vimentina positiva
Diseminación hematógena	Patrón ductal o	Mutación p53
Metástasis visceral y cerebral	metaplásico	Mutación BRCA1
Peor pronóstico		

Las células progenitoras de la mama normal comparten rasgos IHQ con el CM basal (**Figura 1**), lo que ha generado hipótesis acerca del origen celular de los diferentes fenotipos tumorales⁴⁰.

Introducción

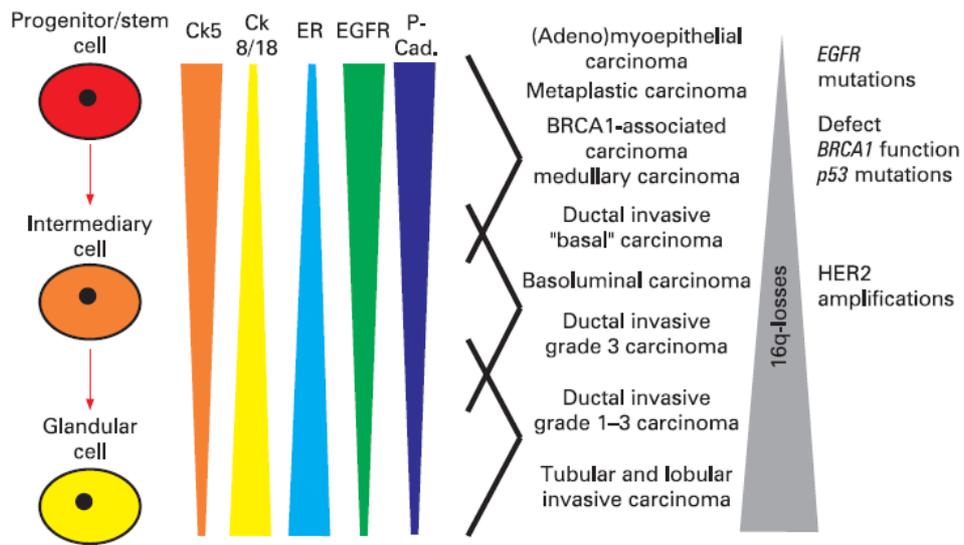


Figura 1. Patrones de inmunohistoquímica en células normales y los distintos subtipos tumorales⁴⁰

1.6. Tratamiento

Tratar un CM conlleva técnicas anatómicas (cirugía y radioterapia) y terapias sistémicas (quimioterapia, hormonoterapia y terapias biológicas). El peso de cada maniobra depende del estadio, de aspectos individuales (edad, menopausia, comorbilidades) y de algunas características del tumor.

1.6.1. Tratamiento local

Se aplican en cánceres de mama restringidos a la mama o a lo sumo a los ganglios linfáticos axilares. Las técnicas quirúrgicas más utilizadas son la mastectomía y la resección conservadora, hoy mejoradas con técnicas oncoplásticas.

La cirugía conservadora consiste en una tumorectomía (resección amplia del tumor, con margen macroscópico superior a 1 cm) o en una cuadrantectomía, ambas seguidas de radioterapia. Es la opción preferente para tumores de diámetro inferior a 3 cm. Varios ensayos clínicos constatan que la cirugía conservadora seguida de radioterapia proporcionan la misma supervivencia que la mastectomía⁴¹. Ésta queda por tanto restringida a tumores extensos y multifocales. Las técnicas oncoplásticas pretenden afinar el resultado cosmético y comprenden, según los casos, la reposición de volumen mamario con prótesis o implantes miocutáneos autólogos, la simetrización de la mama contralateral y la reconstrucción del complejo areola-pezones.

Para comprobar la extensión del CM a los ganglios axilares se han realizado linfadenectomías electivas más o menos extensas, pero en años recientes se viene asentando la biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC). La linfadenectomía afina la estadificación, pero no mejora el pronóstico y conlleva secuelas como linfedema o dolor crónico. La BSGC consiste en la detección de la primera estación de drenaje axilar, mediante inyección de un colorante o un

isótopo en las inmediaciones del tumor primario. Si el ganglio centinela es negativo, el resto de la axila también lo es en más del 95% de los casos, haciendo innecesaria la linfadenectomía⁴².

La radioterapia (RT) constituye un estándar tras cirugía conservadora⁴³, que solo cabe obviar en mujeres mayores de 70 años con CM de muy buen pronóstico⁴⁴. En caso de mastectomía, algunas circunstancias adversas invitan también a la RT sobre pared torácica y cadenas ganglionares.

1.6.2. Tratamiento adyuvante sistémico

En ningún CM, por bueno que sea el pronóstico, se logra un 100% de curaciones a expensas de tratamientos puramente locales. De hecho, con cirugía sola recaerían el 50% de las pacientes con ganglios axilares invadidos y el 25% de las que estén libres de ellos. Aproximadamente 1 de cada 7 son recidivas locales; el resto son recaídas sistémicas que conducen a admitir la existencia de micrometástasis al diagnóstico, y a su vez de evaluar la necesidad de un tratamiento sistémico.

Cualquiera de ellos se puede aplicar a título adyuvante, esto es después de cirugía, con el objetivo esencial de erradicar micrometástasis. En el caso de la quimioterapia (QT), los mismos citostáticos que solo resultan paliativos frente a metástasis macroscópicas, pueden aumentar el número de curaciones al aplicarlos en el contexto de hipotéticas micrometástasis⁴⁵. El beneficio de la QT adyuvante se extiende a todos los tumores y grupos de edad, siendo estándar la administración de antraciclinas y taxanos^{46,47}. En algunas pacientes (mayores de 65 años, hipertensas, cardiópatas, o sometidas a radioterapia torácica), se eluden las antraciclinas por su posible cardiotoxicidad en esquemas de similar efectividad⁴⁸.

En los CM que expresan RE se recomienda la hormonoterapia adyuvante. El tamoxifeno permanece como un estándar en la enferma premenopáusica⁴⁵, aunque caben otras opciones como la supresión ovárica en solitario, o bien la supresión combinada con tamoxifeno o un inhibidor de aromatasas⁴⁹. En la paciente menopáusica, la hormonoterapia debe incluir un inhibidor de aromatasas, bien reemplazando al tamoxifeno, bien en administración secuencial de ambos⁵⁰. A título preoperatorio, está admitida la superioridad de dichos inhibidores de aromatasas respecto al tamoxifeno⁵¹⁻⁵³.

El trastuzumab es un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido frente al dominio extracelular de la proteína HER2 que bloquea las vías de señalización iniciadas por ella. Ensayos que han reclutado más de 13.000 pacientes con CM localizado que sobreexpresa HER2 han demostrado que la supervivencia mejora al aplicar trastuzumab adyuvante durante 1 año⁵⁴.

Quimioterapia neoadyuvante

2. Quimioterapia neoadyuvante (QTNA) del cáncer de mama

La QTNA, también quimioterapia primaria o preoperatoria, se administra antes de cualquier tratamiento locorregional. Inicialmente restringida al CM localmente avanzado e irresecable, a fin de convertirlo en resecable, en la actualidad se extiende al CM resecable, con la doble intención de tratar las micrometástasis cuanto antes y de incrementar la tasa de cirugías conservadoras. Tiene, además, el propósito de evaluar la respuesta tumoral, en calidad de test de quimiosensibilidad in vivo, lo cual es inviable con la QT adyuvante por aplicarse en ausencia de enfermedad visible.

En ocasiones, la QTNA logra una respuesta completa anatomo-patológica (RCP). Este hecho confiere mejor pronóstico y esta predicción se establece en el plazo de pocos meses, en contraposición a los seguimientos prolongados que se requieren para estimar el beneficio de la QT adyuvante. De hecho, la RCP es un marcador indirecto (y precoz) de supervivencia libre de enfermedad (SLE) y supervivencia global (SG).

2.1. Principales estudios publicados

2.1.1. Estudios con antraciclinas

Dado que la doxorubicina era el fármaco más eficaz en enfermedad metastásica y en uso adyuvante, fue protagonista de la experiencia pionera del Instituto Nacional de Tumores de Milán⁵⁵. En 536 pacientes con CM de diámetro $\geq 2,5$ cm, la QTNA arrojó un 85% de cirugías conservadoras. La tasa de RCP fue del 3% (llegando al 10% si se incluía la persistencia de focos solo microscópicos) y se verificó que la respuesta a QTNA es una variable influyente en la SLE a 8 años.

Otro estudio clásico en apoyo de la QTNA es el NSABP B-18, un ensayo aleatorizado de 1.523 pacientes con tumores T1-3⁵⁶. Se usan 4 ciclos de doxorrubicina y ciclofosfamida, bien en fase posoperatoria, bien en formato neoadyuvante. Se constata que la QTNA proporciona alrededor del 9% de RCP, así como un *downstaging* axilar y un incremento de las perspectivas de cirugía conservadora. Aunque la SG fue similar en ambos brazos, justo aquellas pacientes que obtienen RCP tienen la mejor probabilidad de curación.

Un diseño semejante se lleva a cabo en el ensayo EORTC 10902⁵⁷. Reciben antraciclinas, bien de forma neoadyuvante o bien tras cirugía, 698 pacientes con CM en estadios resecables. De nuevo, no se objetivan diferencias en SG ni en SLE, pero la administración preoperatoria comporta más cirugías conservadoras; el 23% de las mujeres que tenían planeada una mastectomía acabaron en una cirugía conservadora.

Se ha publicado un metaanálisis de los 9 ensayos con QTNA basada en antraciclinas sin taxanos⁵⁸, donde se confirma un aumento de las cirugías conservadoras, sin diferencia en ningún otro parámetro evolutivo.

2.1.2. Estudios con taxanos

Los taxanos, que han demostrado eficacia en estadios más avanzados^{59,60}, se han incorporado a la QTNA tanto en regímenes concomitantes con antraciclinas como en protocolos secuenciales⁶¹. Los datos disponibles se exponen a continuación:

a) Antraciclinas y taxanos concomitantes

El estudio ECTO^{62,63} incluye 1.355 pacientes con tumores de mama de más de 2 cm que son aleatorizadas a recibir: A) QT adyuvante con 4 ciclos de doxorrubicina y secuencialmente otros 4 ciclos tipo CMF; B) El mismo esquema

incorporando paclitaxel a la doxorrubicina; o C) Lo mismo que en B, pero de forma preoperatoria.

Con un seguimiento de 43 meses, se evidencia que la adición de paclitaxel tanto antes como después de cirugía incrementa la SLE. Más interesante es que incorporarlo en fase preoperatoria supone incrementar la tasa de cirugías conservadoras (65% frente 34%) y la afectación ganglionar es menor (60% frente 39%). Además, se alcanza un 23% de RCP.

Dieras *et al.*⁶⁴, evalúan la tasa de RCP en 200 pacientes con CM T2-3 N0-1 que reciben doxorrubicina neoadyuvante y se aleatorizan a combinarla con ciclofosfamida o con paclitaxel. Objetivan una tasa de RCP del 16% en las tratadas con paclitaxel frente al 10% en las que recibían ciclofosfamida (las cifras respectivas son 8 y 6%, después de una revisión independiente). Las pacientes que alcanzaban RCP obtenían una SLE más prolongada (92% frente 79%).

Por último el estudio Anglo-Céltico⁶⁵ aleatoriza 363 pacientes con tumores de diámetro ≥ 3 cm, a recibir 6 ciclos de doxorrubicina-ciclofosfamida o bien de doxorrubicina-docetaxel, sin detectarse diferencias entre ambos tratamientos, aunque las dosis de doxorrubicina diferían en ambos brazos.

b) Antraciclinas y taxanos en secuencia

El estudio Aberdeen⁶⁶ evalúa la adición del docetaxel secuencial a la QTNA del CM. Incluye mujeres de edad inferior a 75 años con CM de diámetro > 3 cm, que reciben 4 ciclos de CVAP (ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina y prednisolona). Aquellas que exhiben algún grado de respuesta clínica son aleatorizadas a proseguir con la misma quimioterapia, o bien a recibir 4 ciclos alternativos con docetaxel y prednisolona. Las que no logran una regresión objetiva con CAVP reciben docetaxel sin más trámite. Aproximadamente 4

semanas después de finalizar la QT se procede a exéresis quirúrgica y análisis histológico.

El objetivo primario del estudio era la tasa de RCP. Reclutan 168 enfermas, de las que 162 reciben CAVP. En las pacientes que responden, la RCP se duplica al proseguir con docetaxel (31%) en vez de con más ciclos de CVAP (15%). Cuando no se obtiene respuesta con CVAP, el docetaxel la proporciona secundariamente en el 55% de los casos (por clínica) y en el 2% (por histología). Con 3 años de seguimiento, las pacientes que reciben el régimen secuencial con docetaxel alcanzan una mejor SG (97% frente 78%, $p 0,04$)⁶⁷.

El estudio comparativo NSABP B-27⁶⁸ distribuye a 2.411 pacientes con CM operable (T1-3, N0-1) en 3 brazos; los 3 llevan 4 ciclos de doxorubicina y ciclofosfamida (AC), uno solo con ellos antes de cirugía, otro con 4 ciclos adicionales de docetaxel antes de cirugía, y el último con una secuencia de cirugía y posteriormente 4 ciclos de docetaxel. De nuevo, la adición de docetaxel (o acaso la mayor duración del tratamiento), duplica la tasa de RCP: 13,7% en las pacientes que reciben AC y 25,6% en las que reciben también docetaxel. Además aumenta la proporción de pacientes sin afectación de ganglios linfáticos, pero el incremento de la respuesta no se traduce en un aumento de las cirugías conservadoras ni repercute en mejor supervivencia a largo plazo.

Otro estudio interesante, es el llevado a cabo por el grupo del **MDACC**⁶⁹, en el que se analiza el papel del paclitaxel tanto en el tratamiento adyuvante como neoadyuvante. Se incluyen 524 pacientes con CM operable y se asignan de forma aleatoria a recibir 8 ciclos con esquema FAC frente a 4 ciclos con paclitaxel en régimen trisemanal y secuencialmente otros 4 ciclos tipo FAC. 174 pacientes recibieron QT neoadyuvante y en este caso administraban 4 ciclos preoperatorios y otros 4 tras la cirugía. Cuando se compararon las repuestas y las tasas de cirugías conservadoras fueron similares en los dos brazos, así como el seguimiento a largo plazo.

En conclusión, tanto el estudio NSABP B27 como el estudio Aberdeen sugieren que la opción más recomendable en el tratamiento preoperatorio del CM es la secuencia de antraciclinas y taxanos, con una duración aproximada de 6 meses, ya que duplica la tasa de RCP que repercuten en SG. Todos los ciclos previstos se administran antes de la cirugía.

c) Estudios que incorporan otros quimioterápicos

El estudio GEPARTRIO^{70,71}, incluye 2.050 pacientes con tumores de mama de más de 2 cm. Evalúa la respuesta a la QTNA de forma precoz (tras 2 ciclos de QT tipo TAC), para analizar si la sustitución por otra QT en las pacientes que no responden otorga un incremento en las RCP (objetivo primario del ensayo):

- En tumores “respondedores”⁷⁰ se prosigue con el mismo esquema de QT (un grupo de pacientes recibe 6 ciclos y el otro 8 ciclos). La prolongación del tratamiento no incrementa de forma significativa las RCP ni tampoco las cirugías conservadoras, pero sí condiciona más toxicidades y más abandonos.
- En tumores “no respondedores”⁷¹, las pacientes son aleatorizadas a recibir 4 ciclos con la misma QT o 4 ciclos con capecitabina y vinorelbina. No hay diferencias significativas en respuestas clínicas, radiológicas ni anatomopatológicas (7% de RCP) entre los dos regímenes de quimioterapia.

La estrategia de este estudio es parecida a la ya comentada en el estudio Aberdeen y en ambos trabajos la conclusión es la misma: la respuesta obtenida con un primer esquema de quimioterapia no guía la decisión ulterior. En los tumores respondedores, el insistir en la misma quimioterapia no mejora los resultados (de hecho, el cambio de QT incrementa las RCP); y en los tumores no respondedores, la permuta de esquema tampoco predice un incremento en las RCP.

2.1.3. Estudios que incorporan terapias biológicas

Uno de los grandes hitos en el tratamiento del CM con sobreexpresión (o amplificación) de HER2 es la incorporación de **trastuzumab** y otros agentes anti-HER2. Este bloqueo, en el tratamiento neoadyuvante, ha permitido alcanzar RCP por encima del 50% en la gran mayoría de los trabajos publicados. Se detallan más detenidamente los dos primeros trabajos de Buzdar *et al.*⁷² y de Gianni *et al.*⁷³; otros más recientes, que también incorporan otros agentes anti-HER2 en monoterapia o combinación, se resumen en la **tabla 4**.

Una de las primeras referencias con trastuzumab y QTNA en el CM proviene del **MD Anderson Cancer Center**^{72,74}. Inicialmente se reclutaron 42 pacientes con CM etapa II-IIIa y se randomizaron a 4 ciclos con paclitaxel trisemanal seguidos de otros 4 ciclos tipo FEC o el mismo esquema con la adición de trastuzumab. El esquema con trastuzumab aportaba un 65% de RCP frente al 26% de las que recibían sólo quimioterapia. Estas respuestas eran independientes de la expresión o no de receptores hormonales. La tasa de cirugías conservadoras y la afectación ganglionar fue similar en ambos tratamientos. Respecto a las toxicidades, tanto la neutropenia como el descenso asintomático de la FEVI (fracción de eyección ventricular) fue más frecuente en las pacientes que recibieron trastuzumab. Recientemente se actualizaron los datos con una segunda cohorte⁷⁴ que reproduce lo ya descrito, una tasa de RCP llamativamente alta (60%), nunca antes conseguida solo con quimioterapia.

El **estudio NOAH**^{73,75} es un ensayo fase III que evalúa, en pacientes con cáncer de mama localmente avanzado con sobre-expresión de HER2, una quimioterapia con 3 ciclos de doxorrubicina y paclitaxel, seguidos de 4 ciclos con paclitaxel y por último de otros 3 ciclos con quimioterapia tipo CMF, sean en forma de quimioterapia sola (n=113), sea junto con trastuzumab concurrente (n=115). Las pacientes que recibieron quimioterapia con trastuzumab

consiguieron más respuestas globales (89% frente 77%), más RCP (43% frente 23%) y con una mediana de seguimiento de 3 años mostraban mejor SLE (70.1% vs 53.3%; HR, 0.56; p 0,007). Por otro lado, la adición de trastuzumab neoadyuvante da lugar a más cirugías conservadoras, aunque era una serie de tumores localmente avanzados, o incluso de tipo inflamatorio. Desde entonces, muchos ensayos (incluido un metanálisis⁷⁶) han confirmado el incremento de RCP con la adición de este anticuerpo anti-HER2. Los últimos estudios que seleccionan a la población HER2, incorporando el bloqueo de HER2 junto con QT, quedan reflejados en la **tabla 4**. Una de las aproximaciones más recientes y prometedoras es el bloqueo DUAL de HER2, incorporando otros fármacos como lapatinib^{77,78} o pertuzumab⁷⁹.

Tabla 4. Principales estudios con terapia anti-HER2 en neoadyuvancia

Estudio	n	Tratamiento	RCP (%)	Toxicidades
GeparQuattro⁸⁰	445	QT y trastuzumab frente QT	31,7 / 15,7	Cardiotoxicidad
GeparQuinto⁸¹	620	EC → Doc y Trastuz.. EC → Doc y Lapatinib	30,3 22,7	Más con lapatinib
CHER-LOB⁷⁸	121	Pac → FEC y Trastuz.. Pac → FEC y Lapatinib Pac → FEC y ambos	25 26,3 46,7	
NeoALTTO⁷⁷	455	Trastu y paclitaxel Lapa y paclitaxel Lapa, trastu y paclitaxel	29,5 24,7 51,3	Diarrea y alt. PFH* con lapa y paclitaxel
NeoSphere⁷⁹	417	Docetaxel y trastuzumab Docet, trastuz. y pertuz.. Pertuz. y trastuzumab Docetaxel y pertuzumab	29 45,8 16,8 24	Menos en el brazo sin QT

*PHF: Pruebas de función hepática

Otro de los fármacos, que se ha evaluado en el contexto neoadyuvante es el y **bevacizumab**. La **tabla 5**, resume los principales estudios que han sido publicados recientemente.

Tabla 5. Principales estudios que incorporan bevacizumab en neoadyuvancia

Estudio	n	Tratamiento	RCP (%)	Toxicidades
GeparQuinto⁸² HER2 neg.	1948	EC → Docetaxel	14,9	Neutropenia febril, mucositis, EPP, HTA
		EC → Doc y Beva	18,4	
NSABP B40⁸³ TN	1206	Doc → AC	32,7	EPP, mucositis, neutropenia, HTA
		Doc-Cape → AC	29,7	
		Doc-Gem → AC	31,8	
		QT	28,2	
		QT y Beva	34,5	
CALGB 40603⁸⁴	44	Pac → AC dd*	44	Neutropenia, plaquetopenia HTA, TEP, sangrado, infección, complicaciones poscirugía
		Pac → ACdd* y Beva	48	
		Pac-Carbo → AC dd*	60	
		Pac-Carbo → ACdd* y Beva	59	
ARTemis⁸⁵	800	Doc → FEC	17	Neutropenia g4
		Doc → FEC y Beva	22	

*dd: dosis densas

2.2. Evaluación de la respuesta

2.2.1. Respuesta clínica y radiológica

Clásicamente, la respuesta tumoral a la QTNA se ha evaluado por palpación o por mamografía, pero la correlación con el residuo tumoral anatómo-patológico y con el devenir de las pacientes no eran satisfactorios, sobre todo en CM originados sobre mamas de alta densidad radiológica. En los últimos años se ha implantado la evaluación de respuesta por IRM, gracias a su discernimiento entre fibrosis y residuo tumoral viable, incluso en mama densas¹¹.

Un grupo japonés⁸⁶ analiza retrospectivamente la correlación entre la RM basal y el residuo anatómo-patológico después de QTNA. Establecen 2 grupos: aquellas pacientes que alcanzan respuesta anatomopatológica brillante (47%), a las que denominan quimiosensibles, frente al grupo de pacientes quimiorresistentes en las que apenas se modifica el volumen tumoral con QTNA. Los tumores de mayor diámetro, sin efecto masa y con intensa señal en T2 tendían a ser resistentes; en cambio, lesiones con efecto masa y lavado del patrón de realce correspondían a tumores quimiosensibles.

2.2.2. Respuesta anatómo-patológica

Como ya se ha mencionado, las pacientes cuyos tumores alcanzan RCP, tienen mejor pronóstico a largo plazo. Por esta razón se han desarrollado diferentes clasificaciones que evalúan estas respuestas para que sean reproducibles, otorguen información pronóstica y permitan interpretar los resultados de los diferentes estudios en neoadyuvancia. Desafortunadamente, y hasta hace relativamente poco, no se había logrado consensuar la **definición** de respuesta completa anatómo-patológica (RCP), ya que ésta no es homogénea en los diferentes sistemas de gradación:

- En algunos se considera RCP, cuándo desaparece el tumor en la mama sin considerar si existe, o no, enfermedad en los ganglios de la **axila**. En cambio, otras clasificaciones más “puristas” consideran RCP sólo cuándo no hay tumor infiltrante en la mama ni en los ganglios axilares.
- Además de la consideración o no del estatus ganglionar en la definición de RCP, otra criterio variable en las distintas clasificaciones es la presencia de componente *in situ* (CIS). Hay autores que sugieren que la presencia de CIS, confiere más riesgo de recaída y su definición de RCP es más estricta: no permiten la presencia de tumor infiltrante y tampoco de CIS⁸⁷. En cambio, otros investigadores comunican que la presencia de componente *in situ* no condiciona los resultados a largo plazo⁸⁸.

2.3. Factores predictores de RCP

En general, toda paciente que sea candidata a recibir QT adyuvante puede ser tratada con QTNA⁸⁹. Los diferentes ensayos clínicos comunicados apuntan varios factores predictores para alcanzar una RCP y que se resumen en la **tabla 6**⁸⁹:

Tabla 6. Factores predictores de RCP⁸⁹

Factores	Alta probabilidad de RCP	Baja probabilidad de RCP
Edad	< 40 años	≥ 60 años
Diámetro	< 2 cm	> 4 cm
Histología	Ductal	Lobulillar
Grado	Alto (G3)	Bajo (G1)
Proliferación	Alto Ki-67	Bajo Ki-67
RE	Negativos	Positivos
Subtipo intrínseco	Basal, HER2	Luminal A

2.3.1. Respuesta en función del patrón histológico

Sólo hay datos retrospectivos de que el carcinoma **lobulillar** infiltrante pudiera ser un subgrupo histológico de peor respuesta tumoral a la QTNA sin que esto necesariamente impacte en la supervivencia. Cristofanilli *et al.*⁹⁰ analizó en 1034 pacientes con CM etapa II-III diagnosticadas en un solo centro. Todas las pacientes fueron tratadas con antraciclinas y un 33,5% recibieron además un taxano como parte del tratamiento neoadyuvante. Un 12% de los tumores fueron lobulillares (n=122) y éstos se caracterizaban por aparecer en pacientes de mayor edad respecto a las pacientes con tumores con histología ductal (53 años frente 47 años), más frecuentemente eran tumores hormonosensibles (92% frente 62%), con menor grado histológico (16% frente 56%), debutaban en etapas más avanzadas (10% frente 0% con etapas IIIB o IIIC) y con mayor número de ganglios infiltrados por tumor (41% frente 26% con > 3 ganglios con enfermedad). Las pacientes con carcinomas lobulillares infiltrantes sólo alcanzaban RCP en un 3% de los casos frente el 15% de RCP con histologías ductales, pero esto no tenía una repercusión desfavorable a largo plazo, ya que estas pacientes tenían una SLE y SG superior.

Más recientemente se publica otra experiencia retrospectiva⁹¹ que reproduce los resultados mencionados. La histología lobulillar es un factor predictor de mala respuesta a QTNA y un factor pronóstico favorable.

La serie comunicada por Straver *et al.*⁹², describe cómo los distintos subtipos influyen en las respuestas y resultados a largo plazo tras QTNA. Así, de nuevo advierten que en los tumores con histología lobulillar es menos probable que se alcance una RCP y cómo puede tener implicaciones en el tipo de cirugía: la mitad de los tumores intervenidos de forma conservadora requieren mastectomía por margen afecto.

2.3.2. Respuestas en función del fenotipo tumoral

Las primeras comunicaciones acerca del distinto comportamiento a la quimioterapia de los subtipos tumorales provienen de Rouzier *et al.*⁹³. En 82 biopsias de CM se determinaron los subtipos intrínsecos por perfiles génicos, antes de recibir QTNA con paclitaxel y secuencialmente FAC. Posteriormente, analizaron las RCP según los diferentes subtipos. Un trabajo con un diseño parecido fue el comunicado por Carey *et al.*⁹⁴. La **Tabla 7** resume los resultados de forma conjunta. La probabilidad de alcanzar una RCP en el subtipo luminal es muy baja, en cambio es muy alta en los tumores basales y HER2.

Tabla 7. RCP según subtipos tumorales

Subtipos intrínsecos	Rouzier R <i>et al.</i> ⁹³ (n 82)	Carey LA <i>et al.</i> ⁹⁴ (n 107)
Luminal A/B	2/30 (7%)	4/26 (7%)
HER2+	9/20 (45%)	4/11 (36%)
Basal	10/22 (45%)	9/34 (26%)

El grupo alemán⁹⁵, en 3332 mujeres incluidas en 7 de sus ensayos de neoadyuvancia, analiza el impacto de los diferentes tratamientos (dosis y duración) en las respuestas de los diferentes fenotipos tumorales. En general, la probabilidad de obtener RCP se incrementa con la duración de la quimioterapia, con la dosis acumulada de doxorubicina y de taxanos y con los esquemas que incorporan capecitabina. Cuando se analizan las RCP según los diferentes fenotipos tumorales: los tumores con receptores hormonales positivos requieren tratamientos más prolongados para alcanzar RCP, los tumores HER2 negativos necesitan dosis acumuladas de antraciclinas más elevadas. En los tumores más quimiosensibles parece que tratamientos no tan prolongados ni tan intensivos pueden ser suficientes, ya que en la población

Quimioterapia neoadyuvante

triple negativa, parece más importante la dosis acumulada de antraciclinas que el número de ciclos y en los tumores HER2 positivos pueden alcanzar respuestas favorables con dosis bajas acumuladas de antraciclinas y con menos ciclos, con trastuzumab.

Descripción del proyecto

3. Descripción del proyecto

3.1. Controversia en los métodos de evaluación de respuesta

Desde el advenimiento de la QTNA, las definiciones de RCP han sido variadas, como ya se ha mencionado. Las diferencias dependían de dónde se evaluaba la respuesta patológica (tumor mamario o ganglios axilares) y de si se consideraba sólo el componente infiltrante o también el CIS. Hoy en día, la definición de RCP más aceptada, es la que considera la ausencia de tumor tanto en la mama como en los ganglios de la axila, permitiendo la presencia de *in situ*^{96,97}.

Asimismo, a lo largo del tiempo, se han utilizado diversos sistemas de evaluación de la respuesta anatomo-patológica: algunos han considerado exclusivamente el diámetro tumoral residual en la pieza quirúrgica como el sistema ypTNM⁹⁸ o el TRR (*Tumoral Response Ratio*)⁹⁹, que lo compara con el diámetro clínico-radiológico al diagnóstico. Otros consideran la densidad celular antes y después de la QT como la clasificación de Miller y Payne¹⁰⁰.

Más recientemente, Symmans et al.¹⁰¹, comunica uno de los sistemas de evaluación más interesantes. Se trata de un método cuantitativo de la respuesta tumoral considerando las características del residuo tumoral (RCB, *Residual Cancer Burden*).

Además de los ya mencionados, se han descrito el RDBN (*Residual Disease in Breast and Nodes*)¹⁰² y Chevalier¹⁰³ entre otros, y además, existen sistemas de gradación que pretenden incorporar marcadores biológicos (receptor estrogénico y el grado nuclear) a las clasificaciones clásicas (tipo TNM) para afinar el pronóstico a largo plazo de las pacientes que reciben QT preoperatoria^{104,105}. De esta forma la combinación de variables clínicas y anatomo-patológicas junto a marcadores biológicos permiten precisar el

pronóstico de las pacientes y diseñar de forma más adecuada posibles tratamientos ulteriores. Sin embargo, todavía ninguno de ellos, se ha establecido como el más recomendable en la práctica clínica.

Por estas razones, se pretende comparar los diferentes sistemas de evaluación de respuesta patológica en los tumores de a serie.

3.2. Justificación del esquema de quimioterapia

En el año 1995¹⁰⁶, varios hospitales británicos publican un estudio fase II en pacientes con tumores de mama metastásicos (n=29) y localmente avanzados (n=14). 43 mujeres reciben 8 ciclos de quimioterapia con epirrubicina 50 mg/m², cisplatino 60 mg/m² cada 3 semanas y 5-fluorouracilo 200 mg/m²/d en infusión continua durante 6 meses (ECisF). Describen unas tasas de respuestas muy interesantes, no sólo de respuestas clínicas (84%) sino de respuestas completas tanto en enfermedad metastásica (24%) como en la enfermedad localmente avanzada (36%).

El mismo año, los mismos autores¹⁰⁷, comunican la actividad de este mismo régimen en 49 mujeres con cáncer de mama operable ≥ 3 cm (mediana de diámetro tumoral 6 cm). De nuevo se constata una tasa de respuestas completas del 66%, llamativas para un régimen en ese momento sin taxanos.

¿A qué se debían estos resultados tan espectaculares, al cisplatino o al 5-fluorouracilo en infusión continua?

Con este razonamiento y pensando que quizás repuestas tan brillantes se debieran al **antimetabolito**, se inició en nuestro centro un estudio fase II intramural con doxorubicina, ciclofosfamida y una fluoropirimidina oral como UFT. Éste es un profármaco del 5-fluorouracilo que combina tegafur con uracilo en proporción 1:4. Tegafur se convierte en 5-fluorouracilo a través de dos vías

metabólicas. La metabolización hepática es la más relevante a través del citocromo p450, pero también participan enzimas solubles. El uracilo disminuye la metabolización del 5-fluorouracilo al actuar de sustrato competitivo de la enzima DPD (dihidropirimidina deshidrogenasa), que es la encargada de degradar más del 80% del fármaco. De esta forma, se pretendía emular la infusión continua del 5-fluorouracilo pero con una posología mucho más cómoda. Se trataron más de 20 pacientes con este esquema pero desgraciadamente la tasa de RCP resultó llamativamente baja y muy similar a las ya descritas en esquemas con antraciclinas sin antimetabolitos (RCP 13%) (datos no publicados).

A la vista de estos hallazgos, se decidió iniciar otra fase II intramural en esta ocasión otorgando preponderancia al **platino**. Este grupo farmacológico se une al DNA nuclear y origina aductos que interfieren con la transcripción y con los mecanismos de replicación del DNA. Fueron evaluados inicialmente en CM metastásico, tanto en monoterapia como en combinación y se mostraron más activos cuando se utilizaban en primeras líneas que en sucesivas^{23,108-110}. Las tasas de respuestas descritas con cisplatino en monoterapia oscilaban entre el 42% al 54%, y posteriormente se fueron incorporando en el tratamiento de la enfermedad localizada¹¹¹.

Por todo lo expuesto, se ideó un esquema de QTNA que no sólo incorporaba el cisplatino junto con las antraciclinas sino que añadía el paclitaxel de forma secuencial. Se incluyeron 26 mujeres con CM etapas I-III sin tratamiento previo que fueron tratadas en nuestro centro de Marzo del 1999 a Julio de 2004. Recibieron 3-4 ciclos de cisplatino a dosis de 75 mg/m² y doxorubicina a 50 mg/m² día 1º, seguidos de paclitaxel 80 mg/m²/s x 4 dosis, antes de cirugía.

El 73,1% (n=19) de las pacientes eran premenopáusicas y la mediana de edad de 46,6 años (límites 34-69 años). La mediana del diámetro tumoral fue de 2,6 cm (1-6 cm), la histología ductal la predominante (53,8%, n=14) y hasta un 34,6% (n=9) no expresaban el RE y un 38,5% (n=10) el RP. La distribución por

Descripción del proyecto

etapas fue la siguiente: I: 3,8% (n=1); IIa: 46,2% (n=12); IIb: 30,8% (n=8); IIIa: 15,4% (n=4); IIIb: 3,8% (n=1). Respecto a las toxicidades fundamentalmente fueron extrahematológicas (salvo alopecia): emesis g.3 42,9%, mucositis g.3 3,8% y respecto a las Hematológica \geq g.3: anemia 3,6%; neutropenia 14,3%, sólo 1 episodio de FN; 14% reciben EPO y 39% G-CSF por distintos motivos. El 88,5% de las pacientes se beneficiaron de una cirugía conservadora y un 46,2% (n=12) de las pacientes no tenían infiltración tumoral ganglionar en la axila. Las respuestas clínicas, radiológicas y anatomo-patológicas (según Miller y Payne¹⁰⁰) se resumen en la **tabla 8**¹¹².

Tabla 8. Respuesta clínica, radiológica y anatomo-patológica con QTNA con cisplatino, doxorubicina y paclitaxel

Evaluación	Prog. (%)	E.Estable (%)	R.Parcial (%)	R.Completa (%)
Clínica (n = 28)	0	3,8	73,2	23,1
Radiológica (n = 27)	3,8	11,5	65,4	19,2
Anatomo- patológica (n = 27)	0	51,9	37	11,1 *
* grado 5 de Miller (Heys S. Clin Breast Cancer 2002) RCP → ausencia de tumor infiltrante en mama y axila, permitiéndose CDIS				

Considerando estos resultados, la neoadyuvancia secuencial con cisplatino, doxorubicina y posteriormente paclitaxel semanal lograba unas RCP más cerca de lo conseguido con regímenes tipo AC⁵⁶ que de pautas que añaden docetaxel a las antraciclinas⁶⁶. Por otra parte el papel ejercido por los taxanos se podría cuestionar ya que muchas de las pacientes sólo recibieron 4 dosis semanales. Al mismo tiempo hay que considerar, que es una población en la que el porcentaje de tumores hormonossensibles es muy alto, y esto puede

condicionar el índice de RCP⁹³. Las pacientes recibieron quimioterapia postoperatoria atendiendo a la respuesta obtenida. Si la respuesta era favorable a nivel mamario y axilar (menos de 4 ganglios con tumor) se proseguía con un régimen que incluía antraciclinas y taxanos. Por el contrario si la respuesta era desfavorable se variaba la quimioterapia a docetaxel y vinorelbina.

Con una mediana de seguimiento de 11,37 y 11,74 años para SLE y SG respectivamente, en la siguiente figura (**Figura 2**) se reflejan las curvas de supervivencia.

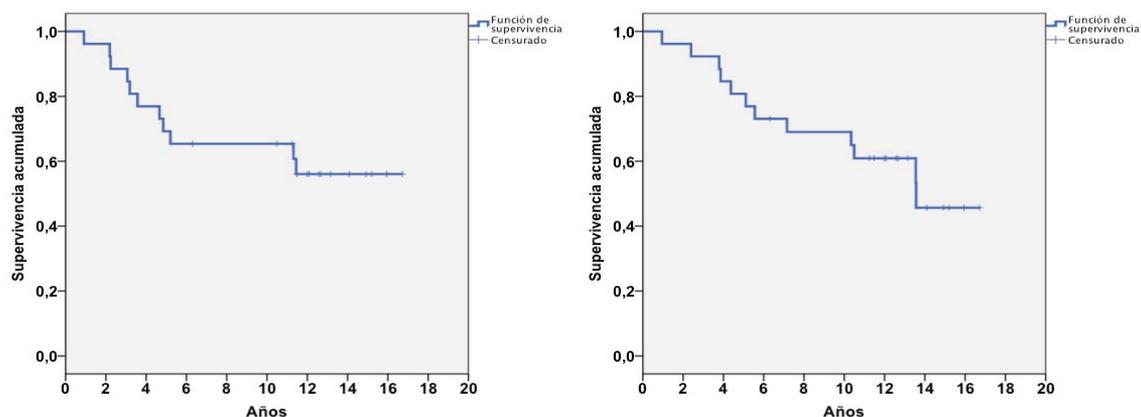


Figura 2: Curvas de SLE (izquierda) y SG (derecha) de las pacientes tratadas con cisplatino, doxorrubicina y secuencialmente paclitaxel

De forma paralela, el grupo británico antes mencionado, y a raíz de los aparentes buenos resultados del régimen ECisF en sus estudios fase II, decidieron desarrollar un estudio fase III (estudio TOPIC¹¹³) en el que se comparaba este triplete (pero en esta ocasión la epirrubicina a dosis de 60 mg/m²) con el tratamiento estándar en ese momento: 6 ciclos de AC (doxorrubicina y ciclofosfamida) que se publica en el año 2004. 426 pacientes con CM infiltrante y tumores ≥ 3 cm fueron incluidas en el estudio. Con una mediana de seguimiento de 5 años, no se obtuvieron diferencias significativas

Descripción del proyecto

en respuestas globales (AC:75% frente ECisF: 77%), ni en respuesta clínicas completas (31% frente 34%) ni en RCP (16% en ambos brazos y del 25% considerando CIS residual). La tasa de mastectomías fue del 37% en el brazo con AC y 34% con el triplete. Tampoco se alcanzaron diferencias en supervivencia global (AC: 74% frente ECisF: 82%, p 0,18). La pacientes que recibieron AC presentaron más toxicidad grado 3-4 hematológica; en cambio las del triplete tuvieron más síndrome palmo-plantar, alopecia, emesis y letargia.

Estos acontecimientos, motivaron el desarrollo de este fase II intramural, en donde de nuevo se incorporaban quimioterápicos como el platino, pero en este caso carboplatino (con un mejor perfil de toxicidad) junto con la doxorrubicina y además se mantenía un taxano (docetaxel en la mayoría de los casos). Y el estudio de este régimen “mejorado” constituye el motivo de esta tesis.

3.3. Justificación del proyecto

Además de analizar su actividad a corto plazo (respuestas) y a largo plazo (supervivencia), se valorarán también otros aspectos relevantes como la influencia del infiltrado linfocitario tumoral en los resultados y el comportamiento de la población triple negativa tratada con este régimen.

Así, es bien conocido que el CM y los diferentes tratamientos aplicados son capaces de estimular el sistema inmune. De hecho, la intensidad de la respuesta inmunitaria influye en la eficacia del tratamiento. Algunos tumores (sobre todo, los fenotipos HER2 y TN son más inmunogénicos que los tumores luminales A, tienen un infiltrado linfocitario llamativo y recientemente, este hecho, se ha propuesto como un marcador precoz de la respuesta inmune adaptativa. Así, cómo funcione la QT depende, al menos en parte, de la reacción inmunitaria frente a las células tumorales y de hecho, la infiltración linfocitaria tumoral (TILs) se ha correlacionado con la SG especialmente en los tumores triples negativos¹¹⁴.

Más recientemente, el platino gana preponderancia fundamentalmente en la **población** triple negativa con tasas de respuestas interesantes en enfermedad avanzada¹¹⁰ y en neoadyuvancia¹¹¹. Por otra parte, y como ya se ha comentado, los tumores triples negativos constituyen un subgrupo heterogéneo, que engloba diferentes enfermedades con respuestas al tratamiento y evoluciones muy diferentes. En este sentido, se requiere información específica adicional que mejore la clasificación de este subgrupo y por ende, tratamientos más dirigidos y efectivos. Por estas razones, se analizará de forma detenida la actividad de este régimen en la población TN y en sus diferentes subtipos.

En el año 2011, Lehmann *et al.*¹¹⁵, proponen una clasificación genómica de los diferentes subtipos de tumores triples negativos. De esta forma describen hasta 7 diferentes: Basal like 1 (BL1), basal like 2 (BL2), inmunomodulador (IM), mesenquimal (M), mesenquimal stem like (MSL), luminal receptor androgénico (LAR) e indeterminado. El pronóstico es diferente en cada uno de ellos, mostrando especial buen pronóstico los luminales y en el otro extremo los tumores con diferenciación mesenquimal.

Burstein *et al.*¹¹⁶, al menos distinguen 4 subtipos de triples negativo: Luminal receptor androgénico (LAR), mesenquimal (MES), basal-like inmunosuprimido (BLIS) y basal-like inmuno-activado (BLIA). En esta serie el grupo de peor pronóstico es el BLIS y el de mejor pronóstico el BLIA. El análisis del número de copias DNA identifica 2 grupos principales: LAR y el resto. Esto sugiere que la amplificación de ciertos genes se traduce en su expresión en algunos casos. La ventaja de esta clasificación “más simplista” es que además pudiera tener repercusión terapéutica. Por otra parte, se desconoce si la presencia de TIL se asocia fundamentalmente con los subtipos inmunomodulador (IM) y/o con el basal like inmuno-activado (BLIA).

En la actualidad, la mejor forma para precisar para clasificar la heterogeneidad de los tumores mamarios, incluidos los triples negativos, son los perfiles de expresión génica. Pero en muchos centros, estas plataformas no están

Descripción del proyecto

disponibles de forma rutinaria (fundamentalmente por su precio) y su utilización queda restringida a casos dónde el pronóstico es incierto. En el resto de situaciones, los diagnósticos de rutina se realizan mediante técnicas de HE y de IHQ. Así, con un número limitado de marcadores (RE, RP, HER2, Ki-67), se pueden catalogar los carcinomas mamarios según lo establecido por los perfiles génicos. La gran ventaja de estas técnicas, es que se encuentran disponibles en todos los hospitales y se pueden aplicar en muestras archivadas.

Por estos motivos, el objetivo de este trabajo es intentar reproducir la clasificación de los tumores TN, basándonos exclusivamente en un panel de marcadores inmunohistoquímicos. Para ello se han seleccionado varios genes (revisando los perfiles génicos de Lehmann et al.¹¹⁵ y Burstein et al.¹¹⁵) representativos de cada subtipo y que tuvieran un correlato proteico fácilmente reproducible y accesible en nuestro centro. La **tabla 9**, resume las 12 proteínas seleccionadas y sus principales funciones y características.

El subtipo LAR se definirá por la expresión de RA (Receptor Androgénico). El subtipo basal con la expresión de p53, EGFR (Receptor del factor de crecimiento epidérmico), CK5/6 (citoqueratina 5/6), Claudina-1 y por la falta de expresión BRCA-1 (somático). La presencia/ausencia de CTLA-4 (Antígeno 4 asociado al Linfocito T Citotóxico), PD-L1 (Programmed death-ligand 1) y STAT1 (Signal Transducers and Activators of Transcription), permitirá clasificar a los tumores basales como “inmunoactivos” (BLIA) o inmunosuprimidos (BLIS). Y por último, algunos marcadores mesenquimales como Vimentina, β -catenina, TGF β -1 (Factor de crecimiento tisular β 1) y la pérdida de expresión de claudina-1, establecerá el subtipo mesenquimal.

Tabla 9. Cuestiones teóricas de las proteínas seleccionadas en CMTN

Proteínas	Función	Características
RA	Receptor Esteroido	Se expresa en el 70% de los CM; 10-15% de los TN Confiere buen pronóstico ^{117, 118} y respuesta a QT
p53	Proteína del gen supresor tumores	Regula ciclo celular; si mutada se acumula en núcleo Mutaciones: Luminal A:12%; Luminal B: 32%; HER2 75%; basales: 84% ¹¹⁹
EGFR	Receptor tirosin quinasa	Proliferación, angiogénesis e invasión Expresión 54% de tumores basales ¹²⁰ Expresión inversamente proporcional a la del RE ¹²¹ Tumores de alto grado y presencia TIL ¹²²
CK5/6	Filamento intermedio	Forma parte del citoesqueleto de células epiteliales Se expresa en epitelio basal ¹²⁰ ; mal pronóstico ¹⁸
BRCA-1	Proteína del gen supresor de tumores	Regula ciclo celular Forma parte del sistema reparativo de recombinación homóloga
Claudina 1	Unión estrecha	Organizan la polaridad de las células epiteliales Su ausencia → carcinogénesis y TEM ¹²³ , mal pronostico; identifica subtipo mesenquimal ¹²⁴
Vimentina	Filamentos intermedios	Se expresa en células mioepiteliales basales Marcador de diferenciación mesenquimal ¹²⁵ Mal pronóstico ¹²⁶ , tumores de alto grado ¹²⁷
β-catenina	Adhesión celular	Forma un complejo con e-caderina → clave para la interacción célula-célula; mal pronóstico Importante en la vía de señalización Wnt;
TGF-β1	Citoquina multifuncional	Mutaciones confieren actividad oncogénica. En etapas precoces efecto antitumoral En etapas avanzadas → progresión y TEM

Tabla 9. Cuestiones teóricas de las proteínas seleccionadas en CMTN (continúa)

Proteínas	Función	Características
PD-L1	Ligando PD-1	<i>Check-point</i> de control negativo; su expresión en CM frena respuesta inmune; se asocia TIL ¹²⁸ Buen predictor respuesta ¹²⁹ , pronóstico ¹³⁰
CTLA-4	Homólogo CD28	<i>Check-point</i> de control negativo Su expresión en CM frena la respuesta inmune
p-STAT-1	Factor transcripcional	Regula sistema inmune

Se pretende confirmar si esta clasificación por IHQ, tiene un correlato con la clasificación génica desde el punto de vista pronóstico y de respuesta a quimioterapia. Y por otra parte, ante el advenimiento de nuevas opciones terapéuticas, pudiera tener una repercusión futura en la práctica clínica. A continuación se refleja la hipótesis de trabajo con las diferentes proteínas seleccionadas que pudieran ser informativas para definir al menos 3-4 subgrupos (**Figura 3**).

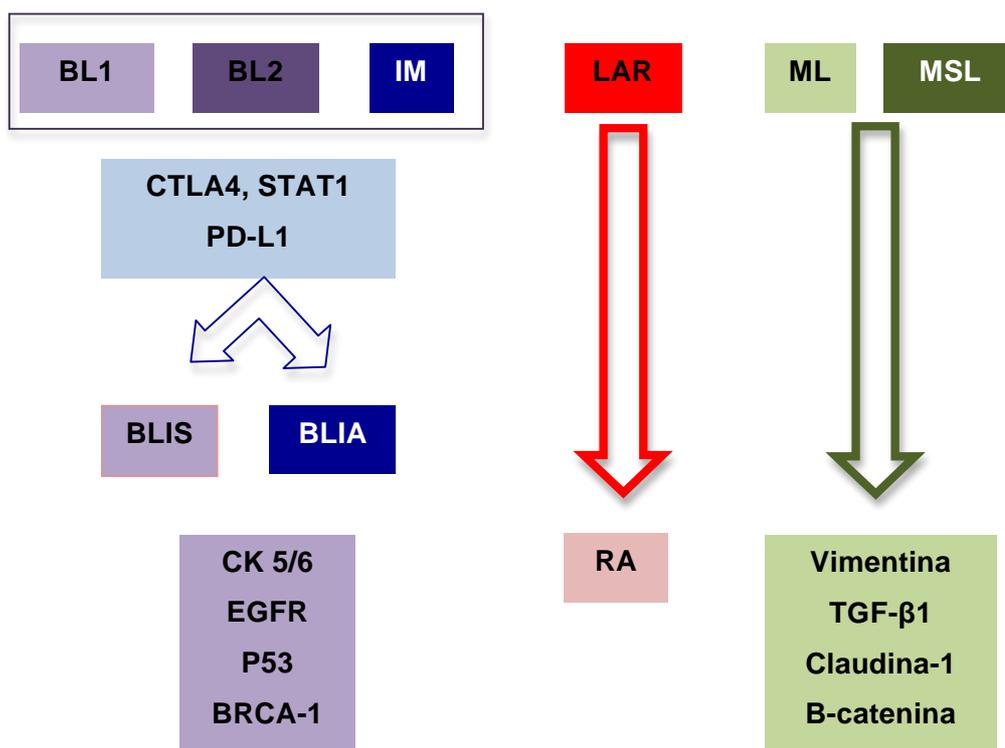


Figura 3. Esquema de las proteínas seleccionadas y su posible correlación con los diferentes subtipos de tumores triples negativos establecidos según Lehmann et al.¹¹⁵ y Burstein et al.¹¹⁶.

3.4. Hipótesis

Toda observación intramural comporta dos limitaciones, un tamaño muestral generalmente pequeño y un sesgo de selección. Sin embargo, el HUMV tuvo vigente durante 5 años un protocolo asistencial con una combinación de carboplatino, doxorubicina y taxano. Por lo tanto, hay lugar para...

- Una revisión retrospectiva pero exhaustiva y homogénea de todas las pacientes así tratadas, que servirá para comprobar las 2 grandes facetas de la QTNA: a efectos clínicos, la realización de cirugía conservadora allí donde parecía necesaria una mastectomía (con su contrapartida en forma de toxicidad); y en términos biológicos, la quimiosensibilidad a los citotóxicos elegidos, con su correspondiente traducción pronóstica.

Aunque está acordado que la RCP es un indicador precoz de supervivencia a largo plazo, no todos los autores la estiman por el mismo procedimiento. Uno de los más sólidos parece ser el RCB, pero está menos extendido que otros y se sostiene en seguimientos relativamente cortos. Por lo tanto, es menester...

- Aplicarlo sistemáticamente tras QTNA que incluye carboplatino y compararlo formalmente con otros métodos más extendidos.
- Comprobar su valor pronóstico a 10 años vista.

Por último, de los 4 fenotipos reconocidos en el CM, no se aportará información específica sobre el fenotipo HER2, pues el protocolo asistencial no incluía el trastuzumab que hoy es un estándar. Sin embargo, cabe profundizar el análisis histopatológico y molecular de todos los tumores e investigar los mecanismos íntimos del fenotipo triple negativo. Este heterogéneo subgrupo reviste el máximo interés, de entrada por su sensibilidad a sales de platino (mejor perfilada hoy que en 2004), y además porque es el nicho preferente para el desarrollo de nuevas dianas terapéuticas. En él surgen dos líneas de trabajo:

- Ver si la IHQ es capaz de discriminar subgrupos con repercusión pronóstica.
- Estudiar si el infiltrado linfocitario peritumoral es predictor de respuesta y factor pronóstico.

3.5. Objetivos

- 1) Describir la población de pacientes tratadas en el S. de Oncología Médica en el H. Universitario Marqués de Valdecilla entre los años 2004 y 2009, con el diagnóstico de CM tratadas con un régimen de QTNA basado en platinos, antraciclinas y taxanos.
- 2) Cuantificar la tasa de RCP y la de cirugía conservadora y calcular la SLE y la SG.
- 3) Estimar la correlación entre la RCR y la RCP.
- 4) Aplicar el *Residual Cancer Burden* (RCB) y otros sistemas de evaluación de la RCP, y correlacionarlos con la SG.
- 5) Identificar factores predictores de respuesta a QTNA.
- 6) Determinar factores pronósticos en términos de SG.
- 7) Investigar las peculiaridades de los tumores triple negativos y su evolución diferencial según distintos perfiles de expresión proteica estimada por IHQ.
- 8) Analizar el Infiltrado Linfocitario Tumoral (TIL) en la biopsia diagnóstica y en la pieza quirúrgica, con su repercusión predictiva y pronóstica.

Pacientes y métodos

4. Pacientes y métodos

4.1. Criterios de inclusión

- Cáncer de mama infiltrante confirmado por biopsia, de cualquier fenotipo.
- Tumor medible bien por palpación, ecografía, mamografía o resonancia magnética.
- Tumor de diámetro mayor o igual a 2 cm, o bien menor de 2 cm si coexiste invasión de linfáticos axilares confirmada por citología.
- Consentimiento informado verbal

4.2. Criterios de exclusión

- Enfermedad metastásica
- Diagnóstico previo de otra neoplasia maligna
- Contraindicación médica para la administración de QT
- Tratamiento previo con quimioterapia, hormonoterapia o trastuzumab

4.3. Variables analizadas

Las variables a estudio incluirán:

- Características epidemiológicas: edad, factores de riesgo (menarquia, menopausia, lactancia, anticonceptivos orales, terapia hormonal sustitutiva, nulípara...).
- Antecedentes personales: diabetes, hipertensión, osteoporosis, hipercolesterolemia.
- Antecedentes personales y familiares de cáncer de mama (y lesiones premalignas) y de otros tumores malignos diferentes de la mama.

- Variables clínicas: sintomatología inicial, fecha diagnóstico clínico e histológico.
- Características de la biopsia tumoral: diámetro, afectación ganglionar, tipo histológico, grado, receptores hormonales, invasión vascular y perineural , márgenes, TIL.
- Características de la pieza quirúrgica: respuestas al tratamiento, afectación ganglionar y cambios histológicos en el ganglio, TIL y grado.
- Características inmunohistoquímicas de los tumores como se reflejará en la **tabla 11**.
- Tratamiento quimioterapia: duración, retrasos y reducciones, toxicidades.
- Otros tratamientos: tipo de cirugía, radioterapia, hormonoterapia o terapias anti-HER2.
- Resultados obtenidos: respuestas clínicas, radiológicas y anatomopatológicas, recaídas, supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global.

4.4. Consideraciones técnicas

4.4.1. De los estudios radiológicos

El diagnóstico por imagen de las lesiones mamarias se realizó utilizando las técnicas convencionales de diagnóstico.

a) Mamografía

Durante el periodo de estudio, el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla dispuso de dos equipos diferentes de mamografía. Antes del año 2005 el equipo de mamografía convencional utilizado fue el "Senographe 800T" de General Electric. Este equipo disponía de un tubo de doble foco de 0.3 y 0.1 mm, con ánodo de molibdeno. Las mamografías se realizaron utilizando un

chasis con conjunto película-pantalla específico para mamografía. Para el revelado de las imágenes se utilizó una reveladora automática de tiempo extendido específica para mamografía (Kodak tipo M35X-OMAT).

A partir de marzo de 2005 se empleó un equipo de mamografía digital, el GE Digital "Senographe 2000D" con detector de Silicio. Las proyecciones mamográficas se realizaron con la misma técnica y se utilizaron estaciones de trabajo específicas de alta definición para la lectura mamográfica, tras el almacenamiento previo de las imágenes en un sistema PACS. La **Figura 4** muestra un ejemplo de imagen de mamografía.

b) Ecografía

Se dispuso de tres modelos diferentes de ecógrafos para el estudio de las lesiones de la mama y como método de guía en los procedimientos de biopsia percutánea.

Hasta el año 2005 se empleó un modelo Siemens Sonoline Prima, con sonda lineal de 5 Mhz. Desde el año 2005 se utilizaron dos modelos diferentes, un Esaote MPX con una sonda lineal multifrecuencia de 7-12 Mhz y un Esaote MyLab, adquirido en 2008, con una sonda lineal multifrecuencia de 7.5-12.5 Mhz. La **Figura 4** muestra un ejemplo de imagen ecográfica.

Se realizó ecografía como técnica de imagen complementaria a la mamografía a todas las pacientes. Con esta técnica pudimos guiarnos para realizar la biopsia percutánea de la lesión y de los ganglios axilares en caso de hacerse. La toma de muestras se realizó con dispositivos automáticos de corte (ACECUT TSK) con agujas de gran calibre (14G).

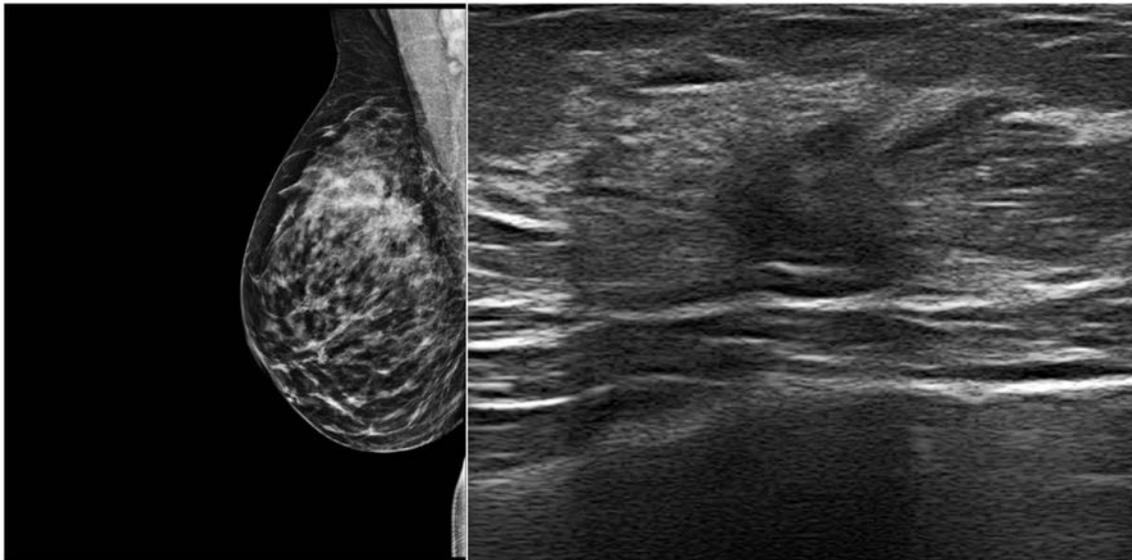


Figura 4. Imagen de mamografía (izquierda). Proyección oblicua mediolateral derecha en paciente con masa de contornos espiculados en el cuadrante superior. Imagen ecográfica (derecha) donde puede verse una masa hipoecogénica de contornos irregulares de características sospechosas de malignidad.

En las pacientes candidatas a una posible cirugía conservadora, se implantó un localizador metálico guiado por ecografía en el lecho del tumor, para facilitar la cirugía en caso de respuesta brillante a la QTNA. Se utilizaron dos tipos de arpones, en la gran mayoría de los casos del tipo TUMARK Profesional 18G de Somatex Medical, dispositivo compatible con resonancia magnética y empleados desde el año 2000. En alguna de las pacientes el localizador que se dejó alojado en el lecho tumoral fue del tipo "Fil d'Áriane" (no compatible con resonancia magnética). Las pacientes que semiológicamente presentaban calcificaciones en la mamografía no precisaron de localizador, dado que son las propias calcificaciones las que nos sirvieron de guía para la localización del lecho tumoral después de la mamografía. La experiencia de nuestro centro ya fue comunicada en el año 2002¹³¹.

c) Resonancia Magnética

Utilizamos dos equipos de resonancia magnética diferentes, una General Electric Signa 1.5T y otra PHILIPS Acheva 3.0T, siempre con antena específica para el estudio de las mamas y obteniendo secuencias dinámicas tras la administración de contraste con reconstrucciones específicas.

Todas las pacientes se evaluaron con mamografía y ecografía y sólo en aquellas mujeres con glándulas mamarias muy densas, que dificultaba una correcta interpretación radiológica, se realizaba IRM mamaria.

Los estudios cuando estaban indicados se realizaron antes de iniciar el tratamiento y al finalizar el mismo, previo a la intervención quirúrgica. Sólo en algunos casos se realizó un estudio complementario a mitad del tratamiento. La **figura 5** muestra un ejemplo de una respuesta completa radiológica por IRM tras QTNA.

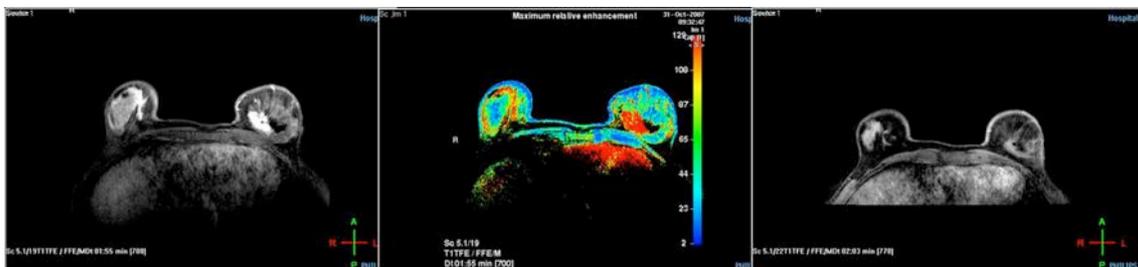


Figura 5. Imagen por RM. Reconstrucciones de la secuencia dinámica realizada tras la administración de contraste paramagnético donde apreciamos una masa de contornos espiculados en los cuadrantes inferiores de la mama izquierda con intenso realce (izquierda), visible en color rojo en la imagen de “realce máximo relativo” (centro) y con ausencia de captación en la secuencia obtenida al finalizar el tratamiento (derecha), característico de una respuesta completa radiológica.

4.4.2. De los estudios patológicos

- a) El grado nuclear (GN) de Black¹⁶, será el utilizado de forma mayoritaria. Refleja el diámetro y la forma del núcleo de las células tumorales en comparación con las del epitelio mamario normal. Establece 3 categorías que se detallan en **tabla 10** y en la **figura 6**.

Tabla 10. Grado nuclear de Black¹⁶

Grado	Morfología
Grado 1	Núcleo grande, vesiculoso, pleomórfico con nucléolo prominente eosinófilo y cromatina reforzando la membrana nuclear.
Grado 2	Núcleo intermedio, presencia de algún nucléolo.
Grado 3	Núcleo pequeño, redondo, uniforme, con ausencia de nucléolo y cromatina distribuida difusamente.

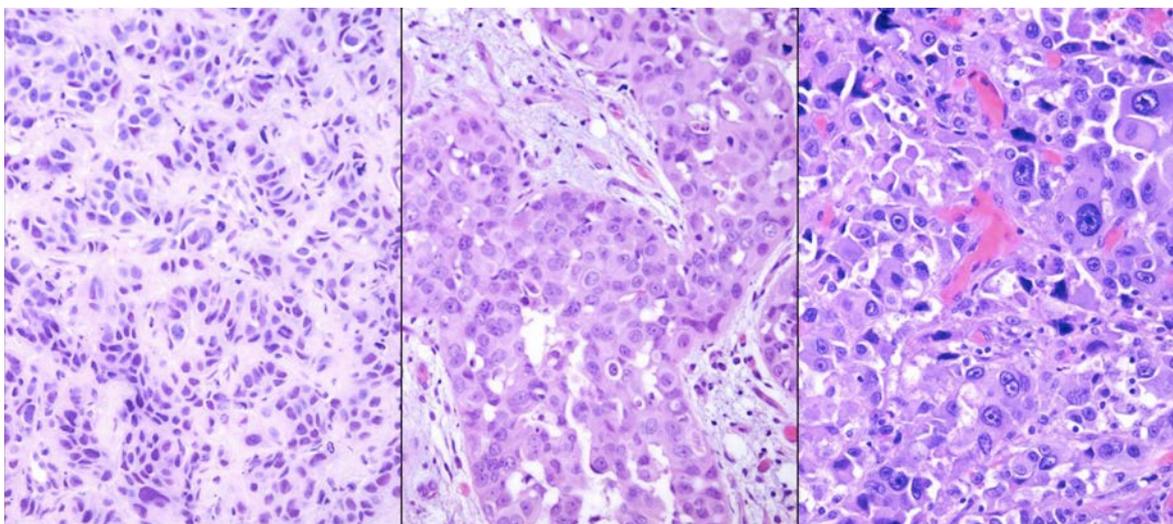


Figura 6. Grado nuclear de Black: GN3 (izquierda); GN2 (central); GN1 (derecha)

b) Inmunohistoquímica (IHQ)

▪ Cuestiones técnicas (Tabla 11)

- Recogida de material en parafina (**selección de bloques**).
- Realización de **cortes** de 4-5 micras recogiendo el material en portas especiales para inmunohistoquímica.
- **Recuperación de antígenos**, en el PTLINK: con Buffer a pH alto o bajo según protocolo. 20 minutos a 90° y después atemperar.
 - o pH bajo: Target Envision Retrieval Solution Low pH Dako®
 - o pH alto: Target Envision Retrieval Solution High pH Dako®

La técnica inmunohistoquímica se realiza automáticamente en teñidor AUTOSTAINER LINK 48 de Dako:

- Lavado
- Eliminación de peroxidasa endógena, 5 minutos (Flex Peroxidase Block Dako®)
- Lavado
- Aplicación del Anticuerpo Primario: incubación de 20 minutos a temperatura ambiente. La dilución utilizada para cada anticuerpo queda reflejada en la tabla 12
- Lavado
- Sistema de visualización, 15-20 minutos (Envision Flex/HPP Dako®). En algunos anticuerpos se utilizó amplificador (tabla 12)
- Lavado
- Cromógeno (Diaminobencidina), 10 minutos (Flex DAB Substrate Working Solution Dako®)
- Lavado
- Tinción de contraste con Hematoxilina, 5 minutos (Envision Flex Hematoxylin-Dako®)
- Lavado
- Montaje alcohólico (previa deshidratación: alcohol 96°, alcohol 100° y xilol)

Tabla 11. Cuestiones técnicas de la inmunohistoquímica

Anticuerpo	Clon	Recup. Antigénica	Dilución	Casa comercial	Visualiz.
REα	EP-1	High	Flex-rtu	Dako	Env+Rabbit
RP	PgR636	High	Flex-rtu	Dako	Env-Mouse
HER2	Polyclonal	Low	Flex-rtu	Dako	HT Vis Reag
Ki-67	Mib-1	Low	Flex-rtu	Dako	Env+Mouse
E-caderina	NCH-38	High	Flex-rtu+ampl	Dako	Env+Mouse
Catepsin D	C5-cdm	High	1/200	Leica	Env+Mouse
Bcl-2	124	High	Flex-rtu	Dako	Env+Mouse
PI3K	C73f8	High	1/100+ ampl	Cell signaling	Envision
RA	Ar441	High	1/50	Dako	Envision
p53	DO- 7	High	Flex-rtu	Dako	Env+Mouse
EGFR	111.6	High	1/10	Thermo scientific	Env+Mouse
CK5/6	D5/16B4	High	Flex-rtu	Dako	Env+Mouse
BRCA-1	Glk-2	High	1/50+ampl	Abcam	Envision
Claudina 1	Polyclonal	Low	1/200	Abcam	Envision
Vimentina	V9	High	Flex-rtu	Dako	Env+Mouse
β-catenina	β -caten-1	High	1/200	Dako	Envision
TGF-β1	2ar2	High	1/50+ampl	Abcam	Envision
PD-L1	Polyclonal	High	1/100	Abcam	Envision
CTLA-4	F-8	High	1/150+ampl	Sta. Cruz Biotech	Envision
p-STAT-1	58d6	High	1/100+ampl	Cell signaling	Envision

▪ **Interpretación de la técnicas anatómo-patológicas**

Se detallan de forma más exhaustiva la interpretación del RE, RP, HER2 y Ki-67 por la repercusión directa que tiene en la clasificación por fenotipos. El resto de proteínas analizadas se resumen en la **tabla 13**.

Receptor de Estradiol (RE) y Receptor Progesterona (RP). La positividad de los RE y RP se valora atendiendo a la tinción nuclear. Se consideran positivas las tinciones por encima del 1% (**Figura 7**). Se realizará una evaluación de la distribución medido por cruces, y de la intensidad (sin tinción 0, débil 1, moderada 2, fuerte 3)¹³², según refleja la **tabla 12**.

Tabla 12. RE y RP: interpretación de la tinción (Leake R¹³², modificado)

% Núcleos positivos	Puntuación	Cruces
0	0	Negativo
<1%	1	
1-10%	2	Positivo una cruz
11-33%	3	Positivo dos cruces
34-66%	4	
67-100%	5	Positivo tres cruces

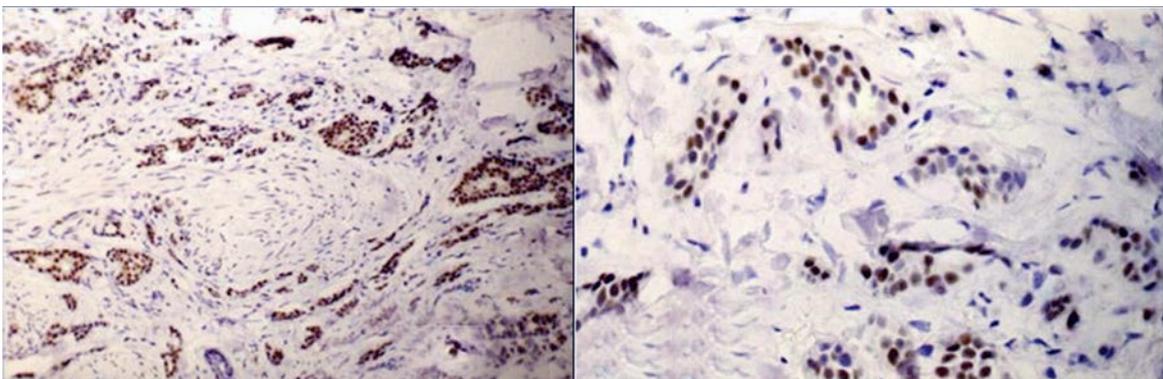


Figura 7. Tinción por IHQ del RE (izquierda) y RP (derecha).

HER2 (Receptor del factor de crecimiento Epidérmico Humano 2). HER2 se determina por inmunohistoquímica y siguiendo las recomendaciones del consenso nacional de la Sociedad Española de Anatomía Anatómico-patológica (SEAP) y de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM)¹³³. Se evalúa exclusivamente en el componente infiltrante y la tinción de membrana y se interpreta atendiendo al porcentaje de expresión (**Figura 8**):

- **Negativo (0):** ausencia de tinción de membrana o tinción en menos del 10% de las células.
- **Negativo (1+):** tinción de membrana débil e incompleta en más del 10% de las células.
- **Borderline (2+):** tinción completa de membrana, débil o moderada, en más del 10% las células o tinción completa e intensa en 10-30% de las células.
- **Positivo (3+):** tinción de membrana completa e intensa en más del 30% de las células.

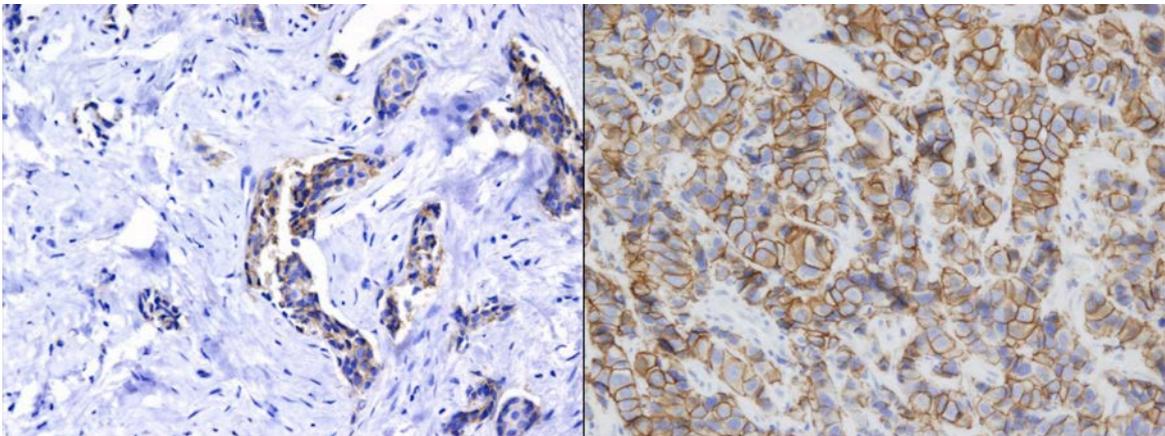


Figura 8. Ejemplos de tinción de HER2 por IHQ: HER2 1+ a la izquierda y HER 3+ a la derecha.

Si la tinción por inmunohistoquímica es intermedia (2+) se estudiará si el gen está o no amplificado por técnicas de HIS. En casos en que se plantee alguna duda entre 1+ y 2+ o entre 2+ y 3+ también se realizará HIS. Tal como se ha comentado anteriormente, en todos los casos en los que el procesamiento del tejido no haya sido el óptimo y cuando sólo se dispone de muestra citológica se

recomienda, así mismo, realizar HIS¹³³. De nuevo, la interpretación de la determinación de HER2 mediante HIS se ajusta a criterios establecidos en el consenso nacional¹¹⁹, si bien es cierto que en el año 2013 las guías americanas modifican la lectura según el número de copias del gen amplificado^{24,133}. Se evaluará sólo el componente infiltrante y se evaluarán al menos 20 células en al menos dos áreas tumorales distintas:

- **No amplificado:** Ratio de señales del gen HER2 frente a señales del cromosoma 17 $< 1,8$.
- **Amplificado:** Ratio de señales del gen HER2 frente a señales del cromosoma 17 $> 2,2$.
- **Borderline:** Ratio de señales del gen HER2 frente a señales del cromosoma 17 entre 1,8 y 2,2.
- **Polisomía:** Número de señales del centrómero 17 por núcleo ≥ 3 .
- **Monosomía:** Número de señales del centrómero 17 por núcleo $< 1,5$.
- **No interpretable:** si ocurre al menos una de las siguientes circunstancias:
 - No hay presencia de señales de una u otra sonda en al menos 20 células.
 - Si estas señales son débiles o inexistentes en más del 25% de las células.
 - No es posible valorar como mínimo dos áreas diferentes de carcinoma infiltrante.
 - Los controles no muestran el resultado esperado.

Ki-67, es una proteína nuclear que se expresa en células en fase de proliferación (G1, S, G2 y M), pero no lo hace en G0. Los niveles de Ki-67 son bajos en las fases G1 y S, adquiriendo un pico en la fase de mitosis. Valores por debajo del 20% ayudan a clasificar a los tumores luminales A. Aunque el punto de corte es variable (en el estudio GEICAM 2006-03³⁰ se define por debajo del 10% y en el consenso de St Gallen 2011¹³⁴ se consideraban valores por debajo del 14%), las publicaciones más recientes se decantan por la cifra del 20%¹⁷ que es la que guiará este trabajo. Lo más común es expresarlo como

un variable continua (observar cuántas células exhiben tinción nuclear mediante inmunohistoquímica) o dicotómica atendiendo al valor mencionado ($Ki-67 < 20\%$ o $Ki-67 \geq 20\%$) (**Figura 9**). En los tumores TN, por su alto índice proliferativo, se utilizará un punto de corte más alto y se analizarán atendiendo a $Ki-67 < 40\%$ o $Ki-67 \geq 40\%$.

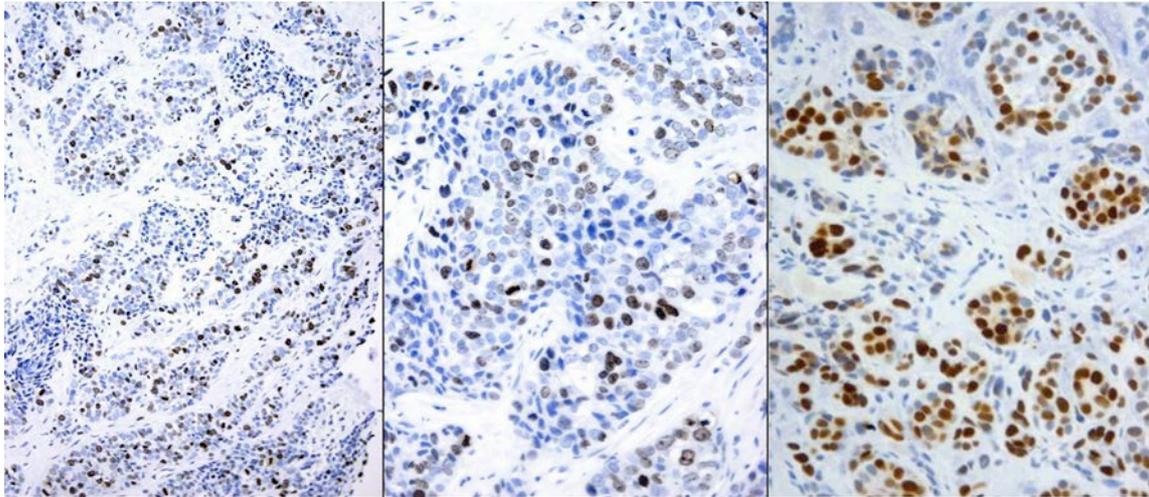


Figura 9. Ejemplos de tinción por IHQ de Ki-67: A la izquierda, tinción de Ki-67 moderada en uno de los tumores a bajo aumento. En el centro, tumor de bajo índice proliferativo (Ki-67 bajo). A la derecha tumor con alto índice proliferativo (Ki-67 alto).

La siguiente tabla (**Tabla 13**) resume la interpretación de la IHQ de las proteínas seleccionadas en la población triple negativa y la **tabla 14** describe las técnicas de IHQ no vinculadas a ningún fenotipo. En los casos en los que se establecen 4 categorías (0 → sin tinción; 1+ → tinción débil; 2+: tinción moderada; 3+ → fuerte), se agrupan en 2 categorías (0/1+ y 2+/3+), para su posterior análisis.

Tabla 13. Interpretación de las técnicas de IHQ realizadas en CMTN

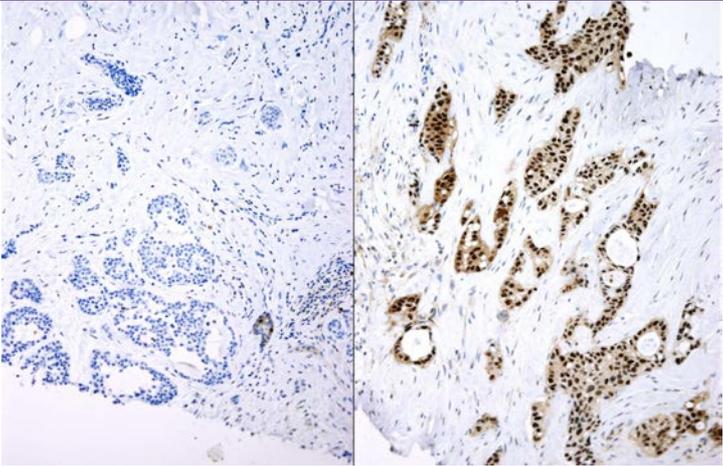
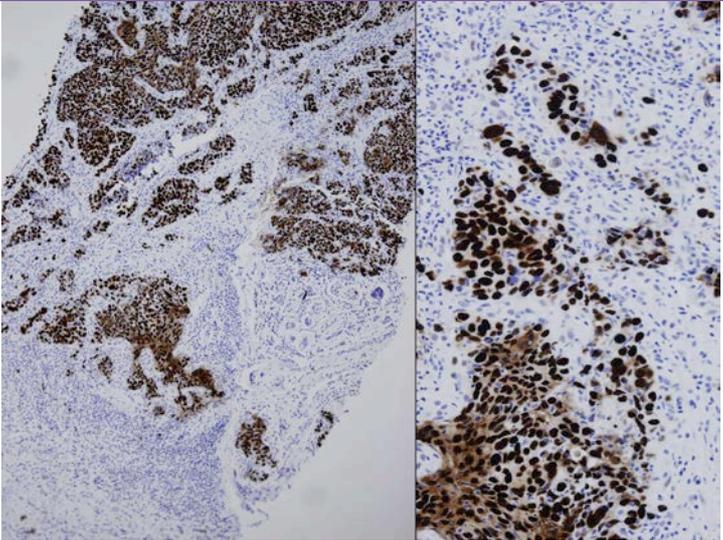
Anticuerpo	Interpretación IHQ	Localización
RA	Positiva >10% ¹³⁵ ; cualquier intensidad	Núcleo
	 <p>Ej. Izq: sin tinción Dcha: tinción positiva</p>	
p53	0: sin tinción; 1: débil; 2: moderado; 3: fuerte Las formas mutadas se acumulan en el núcleo.	Núcleo
	 <p>Ej. Izq. Tumor con tinción fuerte a bajo aumento. Dcha. Tinción nuclear.</p>	

Tabla 13. Interpretación de las técnicas de IHQ realizadas en CMTN (continúa)

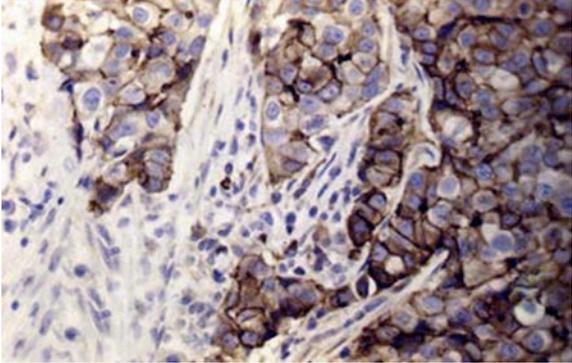
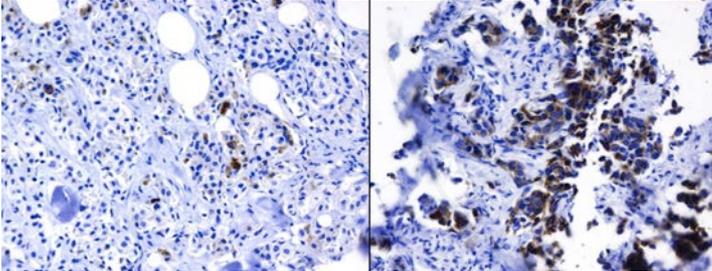
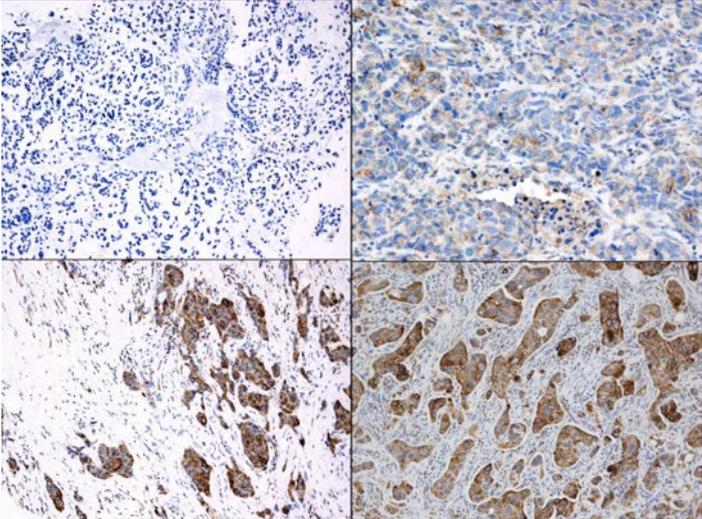
Anticuerpo	Interpretación IHQ	Localización
EGFR	0: sin tinción; 1: débil; 2: moderado; 3: fuerte	Membrana
		Tinción fuerte de membrana
CK5/6	Positiva > 1%; Cualquier tinción Control positivo células mioepiteliales	Citoplasma y/o membrana
		Ej. Izq: sin tinción Dcha: tinción positiva
BRCA-1	0: sin tinción; 1: débil; 2: moderado; 3: fuerte Si mutación gen BRCA-1 → prot. no se expresa	Núcleo y/o citoplasma
		Ej. imagen superior izquierda: sin tinción; el resto muestra diferentes intensidades de la tinción

Tabla 13. Interpretación de las técnicas de IHQ realizadas en CMTN (continúa)

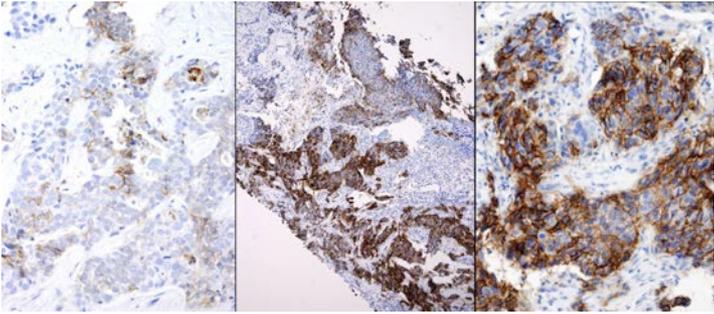
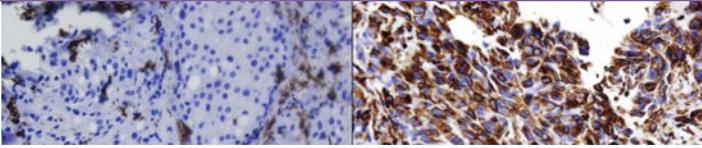
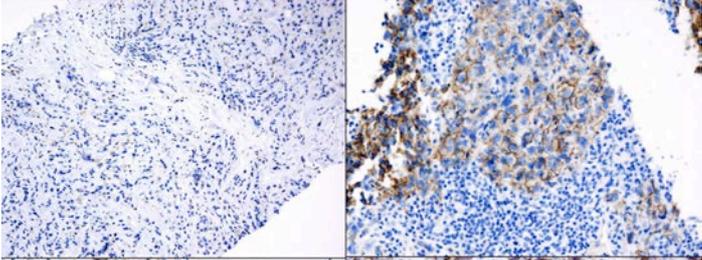
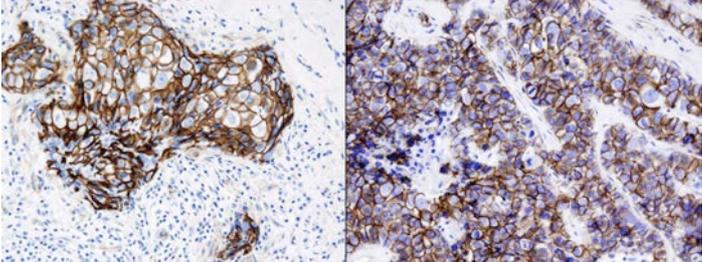
Anticuerpo	Interpretación IHQ	Localización
Claudina 1	0: sin tinción; 1: débil; 2: moderado; 3: fuerte Según autores positiva >1% tumor ¹³⁶	Membranosa Citopl. Puntiform
		Ej. Sin tinción (izquierda); distintas intensidades de tinción (central y derecha)
Vimentina	Positiva > 10% tumor	Citoplasma
		Negativa (izq) Positiva (dcha)
β-catenina	0: sin tinción; 1: débil; 2: moderado; 3: fuerte	Membrana Núcleo- citopl. peor ¹³⁷
		Superior: tinción negativa (izq) y débil (dcha)
		Inferior: tinción fuerte de membrana

Tabla 13. Interpretación de las técnicas de IHQ realizadas en CMTN (continúa)

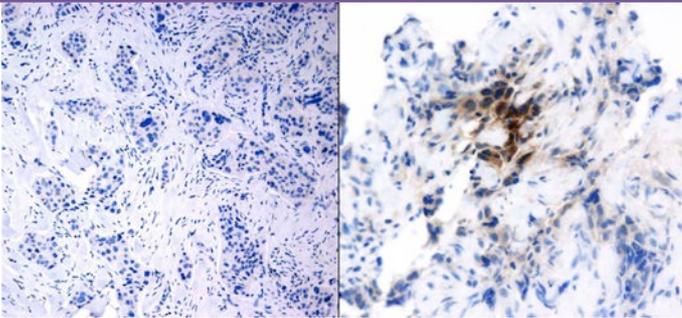
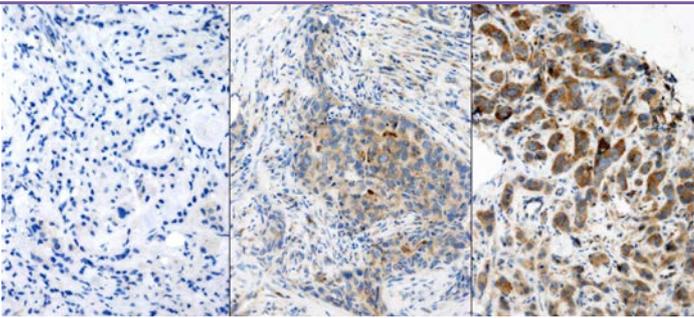
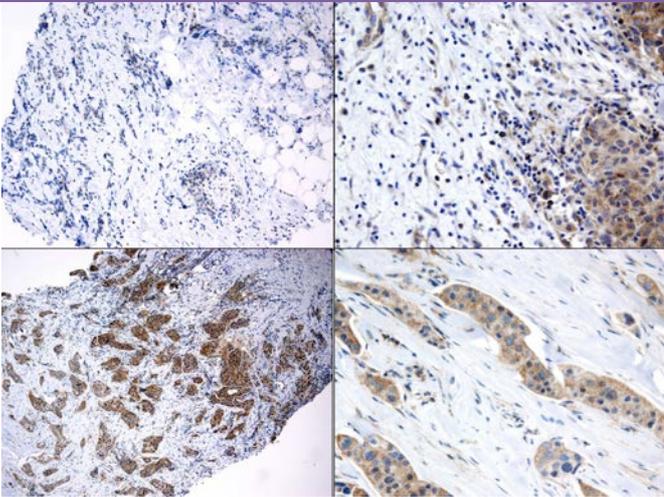
Anticuerpo	Interpretación IHQ	Localización
TGF-β1	Negativo: sin tinción; Positivo >5%	Estroma y citopl. tumor
		Imagen izq. sin tinción; Dcha: área tumoral con tinción positiva
PD-L1	0: sin tinción; 1: débil; 2: moderado; 3: fuerte	Citoplasma y nuclear
		Izq: sin tinción Centro: débil Dcha: fuerte
CTLA-4	Negativo: sin tinción; Positivo >10%	Citopl. tumor y linfocitos ¹³⁸
		Superior: Izq. Sin tinción; dcha tinción linfocitos y tumoral Abajo: Expresión positiva en 2 tumores

Tabla 13. Interpretación de las técnicas de IHQ realizadas en CMTN (continúa)

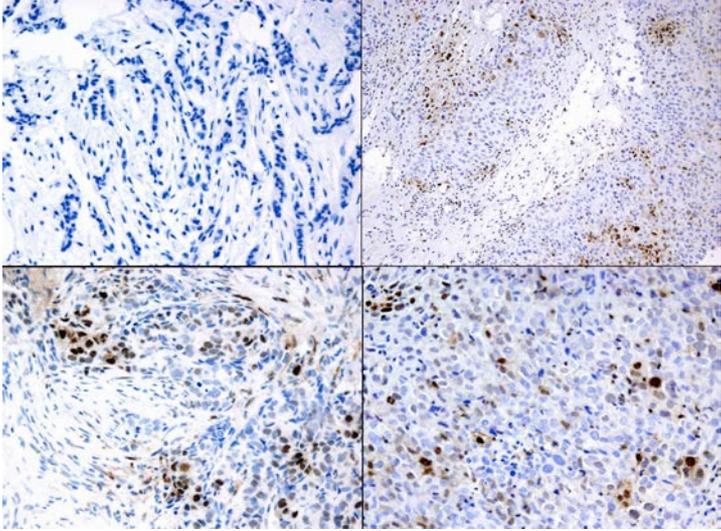
Anticuerpo	Interpretación IHQ	Tinción
<p data-bbox="225 808 368 846">p-STAT-1</p>	<p data-bbox="424 454 1062 488">0: sin tinción; 1: débil; 2: moderado; 3: fuerte</p>	<p data-bbox="1182 454 1289 488">Núcleo</p> <p data-bbox="1182 510 1331 544">Superior:</p> <p data-bbox="1182 566 1362 925">izq. sin tinción; dcha, tumor a bajo aumento con tinción débil.</p> <p data-bbox="1182 947 1369 1193">Abajo: Distintas intensidades de tinción nuclear</p>
		

Tabla 14. Interpretación de técnicas de IHQ no vinculadas a ningún fenotipo

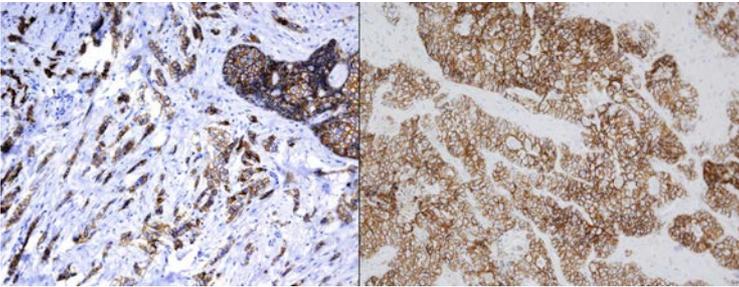
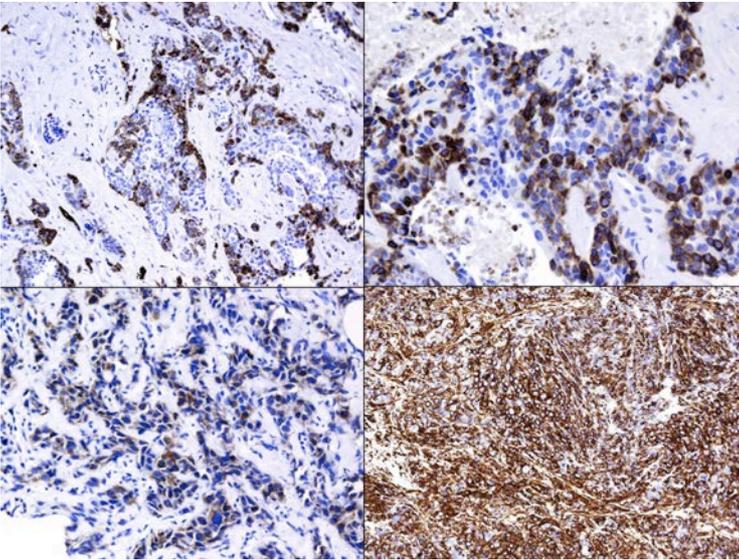
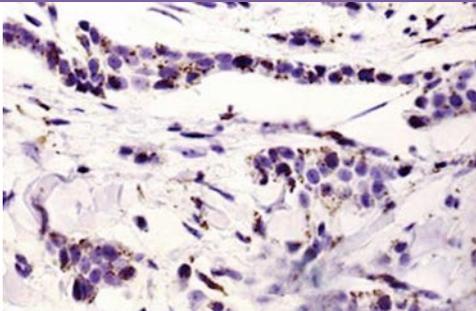
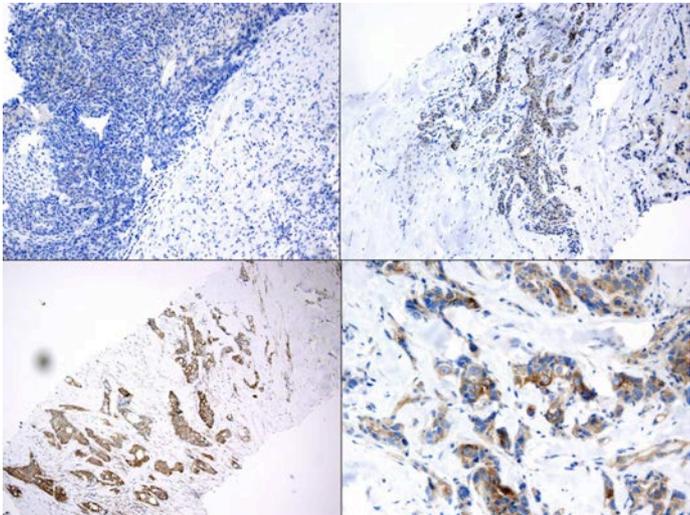
Anticuerpo	Función	Interpretación IHQ	Localización
	Molécula de adhesión celular Si no se expresa → Mal pronóstico TEM ¹³⁹	0: sin tinción; 1: débil; 2: moderado; 3: fuerte	Membrana
E-caderina			Izq. Carcinoma ductal a bajo aumento; Dcha. Tinción membrana
	Buen pronóstico ¹⁴⁰ Recíproca con p53 ¹⁴¹	0: sin tinción; 1: débil; 2: moderado; 3: fuerte	Citoplasma ¹⁴²
Bcl-2			Superior: tumores con escasa células positivas Inferior: Izq. Intensidad débil; dcha. Intensidad fuerte

Tabla 14. Interpretación de otras técnicas de IHQ no vinculadas a ningún fenotipo (continúa)

Anticuerpo	Función	Interpretación IHQ	Localización
Catepsina D	Proteasa aspártico soluble; en lisosomas	0: sin tinción; 1: débil;	Acúmulo formas prematuras
	Formas prematuras confieren mal pronóstico ^{143,144}	2: moderado; 3: fuerte	- Citoplasma - MEC
			Tinción puntiforme en citoplasma de células tumorales
PI3K	Regula proliferación y supervivencia	0: sin tinción; 1: débil;	Citoplasma Membrana
		2: moderado; 3: fuerte	Superior: izq. Sin tinción; dcha. Bajo aumento. Tinción débil. Inferior: Izq. Bajo aumento; dcha. Gran aumento. Tinción fuerte

Todas las IHQ de las pacientes con tumores TN se realiza en H. Universitario Marqués de Valdecilla. Las muestras evaluadas en H. Sierrallana (biopsias y piezas) se evalúan atendiendo a los criterios ya mencionados y con el consenso de las patólogas implicadas. Las determinaciones inmunohistoquímicas y por HIS se realizaron en la biopsia mamaria basal, pero en su defecto se determinaron en la pieza quirúrgica. Si surgían problemas de interpretación, se realizaba nueva tinción en nuevo corte para valoración definitiva.

4.5. Determinación de los fenotipos tumorales

Los subtipos intrínsecos del CM se determinan atendiendo a los criterios clínico-patológicos recomendados recientemente en el consenso St. Gallen¹⁷:

- **Luminal A:** RE positivo y/o RP positivo, HER2 negativo, Ki-67 bajo (< 20%)
- **Luminal B (HER2 negativo):** RE positivo y/o RP positivo, HER2 negativo, Ki-67 alto (> 20%)
- **Luminal B (HER2 positivo):** RE positivo y/o RP positivo, HER2 positivo, cualquier Ki-67
- **HER2 positivo (no luminal):** RE negativo y RP negativo, HER2 positivo
- **Triple negativo (ductal):** RE negativo y RP negativo, HER2 negativo

4.6. Clasificación de los tumores triple negativos

Se ha definido un algoritmo secuencial:

- a) Inicialmente se analizan criterios clínicos e histológicos que orienten a la clasificación sin necesidad a priori de otros estudios inmunohistoquímicos:

- tumores metaplásicos (mesenquimales), pacientes con mutación BRCA germinal (basales like 1).
- b) Identificación del subgrupo LAR. De esta forma se identifican tumores que prácticamente NO responden a QT, de mejor pronóstico y con posible repercusión terapéutico.
 - c) El siguiente paso consistiría en la identificación de los tumores basales, gracias a CK5/5, EGFR, Claudina-1, p53 y BRCA-1 (somático). Posteriormente, con PD-L1, CTLA4 y STAT1 se intentará subdividir a este subgrupo en dos con diferentes respuestas y pronóstico: tumores basales inmunoactivos (BLIA) e inmunosuprimidos (BLIS).
 - d) La baja frecuencia de los tumores mesenquimales relegan su identificación a última instancia: Vimentina, TGF- β 1, “low” Claudina-1 y β -catenina ayudarán a definir a este subgrupo.

4.7. Evaluación de la Infiltración Linfocitaria Tumoral (TIL)

El Grupo Internacional de Trabajo en TILs recientemente ha publicado unas guías que permiten su evaluación estandarizada¹⁴⁵ (**Anexo 4**). Se determina por HE, se considera el infiltrado linfocitario estromal, y su impacto se evalúa como una variable continua. Además, definen aquellos tumores con más del 50% de infiltrado linfocitario como cánceres de mama con predominio linfocítico (LPBC).

La linfocitos intratumorales son menos abundantes que los estromales y la información pronóstica que aportan es similar. Por esta razón y tal como recomiendan las guías se contabilizarán exclusivamente los linfocitos estromales.

En nuestra serie, el análisis de los TILs se determinará la población predominantemente linfocítica (LPBC) siguiendo estas recomendaciones. Por lo tanto, se describirán dos poblaciones: tumores con menos del 50% de

infiltrado linfocitario o con más del 50% y se considerará por tanto como una variable dicotómica. Además su determinación se llevará a cabo en la biopsia diagnóstica y en la pieza tumoral, con el objetivo de valorar si existe un cambio en el infiltrado tras el tratamiento.

4.8. Plan terapéutico

Las pacientes con lesiones sospechosas a nivel ecográfico y/o mamográfico son biopsiadas para confirmar la presencia de carcinoma infiltrante. La indicación de RM así como la colocación de localizador se indican atendiendo a criterios radiológicos estándar.

Los casos son evaluados en la sesión oncológica de forma multidisciplinar y si se determina la indicación de QTNA, las pacientes fueron remitidas al Servicio de Oncología Médica. Se informa verbalmente a todas las pacientes acerca del diagnóstico, pronóstico y tratamiento, incluidos posibles efectos secundarios.

El régimen de quimioterapia utilizado (opción 1) y sus posibles variaciones (opción 2) se indican a continuación:

a) Opción 1

- Carboplatino AUC de 6 y doxorubicina 50 mg/m², ambos por vía IV el día 1^o, cada 3 semanas, x 4 dosis.
- Docetaxel 75 mg/m², por vía IV el día 1^o cada 3 semanas x 4 ciclos.

b) Opción 2

- Carboplatino AUC de 6 y doxorubicina 50 mg/m², ambos por vía IV el día 1^o, cada 3 semanas, x 4 dosis.
- Paclitaxel 80-100 mg/m², por vía IV el día 1^o semanal x 8 semanas.

Ninguna de las pacientes con tumores que sobre-expresaban la proteína HER2 recibe trastuzumab neoadyuvante.

Dependiendo de la respuesta observada, la localización tumoral y la relación tumor/mama se indica el tipo de cirugía (conservadora, mastectomía y/o técnicas oncoplásticas y disección ganglionar), considerando, además, la preferencia de las pacientes. A nivel axilar, se realiza linfadenectomía axilar o biopsia de ganglio centinela según el protocolo vigente en el centro.

Las pacientes reciben toda la quimioterapia antes de la cirugía. No se consideró en ningún caso quimioterapia postoperatoria incluso en pacientes con tumores con respuestas pobres a la quimioterapia.

La **figura 10** representa gráficamente el plan terapéutico.

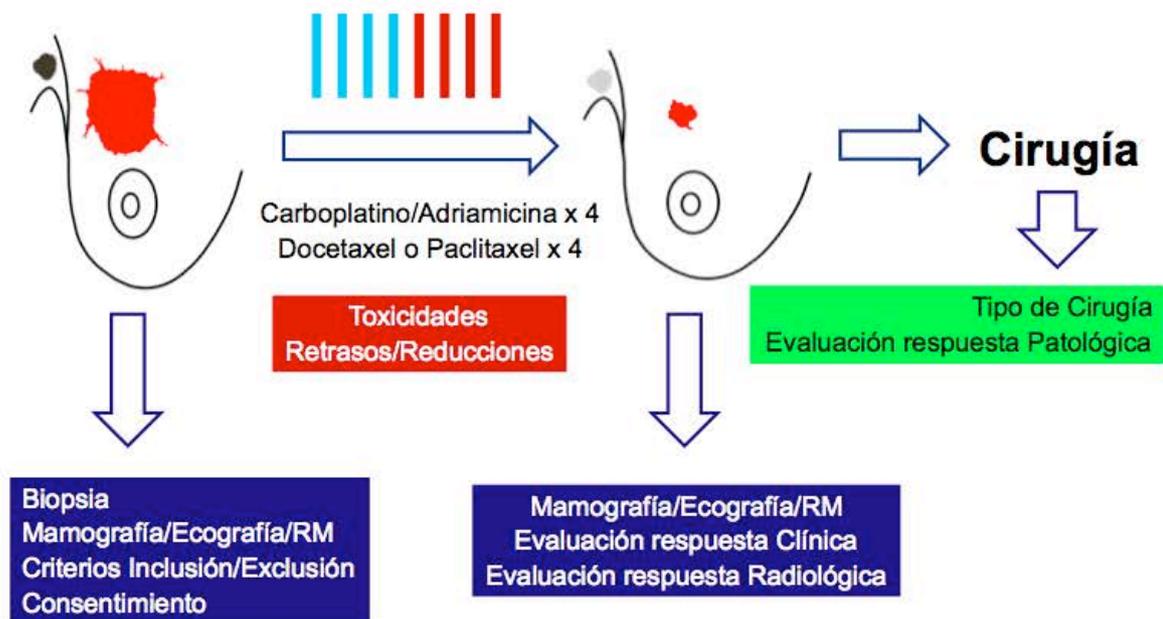


Figura 10. Plan terapéutico del proyecto

Según el tipo de cirugía y resultado histológico se indica radioterapia locorregional. Las pacientes son tratadas en acelerador lineal Elekta Precise con planificación 3D tras la realización de una TC de dosimetría. Tras cirugía

conservadora se tratan todas las pacientes recibiendo una dosis de 50 Gy a 2 Gy/fracción o 40,05 Gy a 2,67 Gy/fracción sobre el remanente mamario y un boost adicional sobre el lecho de la tumorectomía de 10-16 Gy a 2 Gy/fracción según el estatus de los márgenes y edad de las pacientes. Tras la mastectomía, la indicación de la radioterapia asienta en la peor situación pre o post quimioterapia. Se tratan con radioterapia adyuvante a pacientes con tumores mayores de 5 cm, margen afecto o con afectación de la piel o de músculo pectoral. La dosis total de RT que se administra a estas pacientes fue de 50 Gy a 2 Gy/fracción.

Las pacientes con afectación de más de tres ganglios reciben 50 Gy a 2 Gy/fracción sobre las cadenas de drenaje (niveles I, II, III y fosa supraclavicular) además de sobre la pared torácica o remanente mamario. En el caso de afectación de 1 a 3 ganglios, solo reciben radioterapia las pacientes con linfadenectomía de menos de 10 ganglios o algún criterio de mal pronóstico como la extensión extracapsular. En caso de afectación tumoral ganglionar pre-quimioterapia con respuesta completa tras cirugía se tratan la pared o remanente mamario y las cadenas ganglionares. La irradiación de la cadena mamaria interna solo se incluye si había afectación de la misma.

Reciben hormonoterapia adyuvante si existe hormonosensibilidad y trastuzumab adyuvante durante 1 año a partir de su aprobación en el año 2006, si el tumor sobre-expresaba HER2.

4.9. Evaluación de respuesta

La respuesta tumoral se evalúa por palpación y radiológicamente antes del inicio y al final de la quimioterapia. En muchas ocasiones se reflejan mediciones intermedias que no se han considerado, al no tener correlato radiológico. Desde el punto de vista patológico las evaluaciones de respuesta se realizan en la pieza quirúrgica.

4.9.1. Clínica y radiológica

La evaluación de la respuesta se realiza, desde el punto de vista radiológico por ecografía, mamografía y/o resonancia magnética. Los criterios de evaluación de respuesta, tanto clínicos como radiológicos, se rigen por **RECIST 1.1**¹⁴⁶:

- Respuesta completa → no se palpa tumoración en la mama ni en la axila
- Respuesta parcial → disminución del 30% del diámetro mayor tumoral
- Estabilidad → sin datos de respuesta ni de progresión
- Progresión → incremento del 20% en el diámetro mayor de la tumoración

Además se considerará si la tumoración es unifocal, bifocal o multifocal, así como la bilateralidad. Además se prestará atención a los cambios morfológicos (respuesta concéntrica, fragmentada, con realce, necrosis...). Se intentará establecer las diferentes respuestas según fenotipos tumorales (luminales A y B, HER2 y triples negativas), prestando especial atención a la población triple negativa.

4.9.2. Anatomo-patológica

El objetivo del estudio es la evaluación de la RCP según el sistema del RCB, pero se comparará con otros frecuentemente utilizados en la clínica. se describen los 4 métodos de evaluación de respuesta anatomo-patológica utilizados:

- a) **RCB**¹⁰¹ (Residual Cancer Burden, o carga tumoral residual). Se trata de un método cuantitativo de evaluación de la respuesta tumoral considerando ciertas características de la enfermedad residual como:
- Diámetro tumoral residual
 - Densidad celular del carcinoma infiltrante (**Figura 11**)

- Diámetro mayor de las metástasis ganglionares
- Número de ganglios linfáticos con tumor

Con estos factores y gracias a una fórmula matemática accesible en la web <http://www3.mdanderson.org/app/medcalc/index.cfm?pagename=jsconvert3> se obtiene un valor que reproduce numéricamente la carga tumoral residual, y que tiene repercusión a largo plazo.

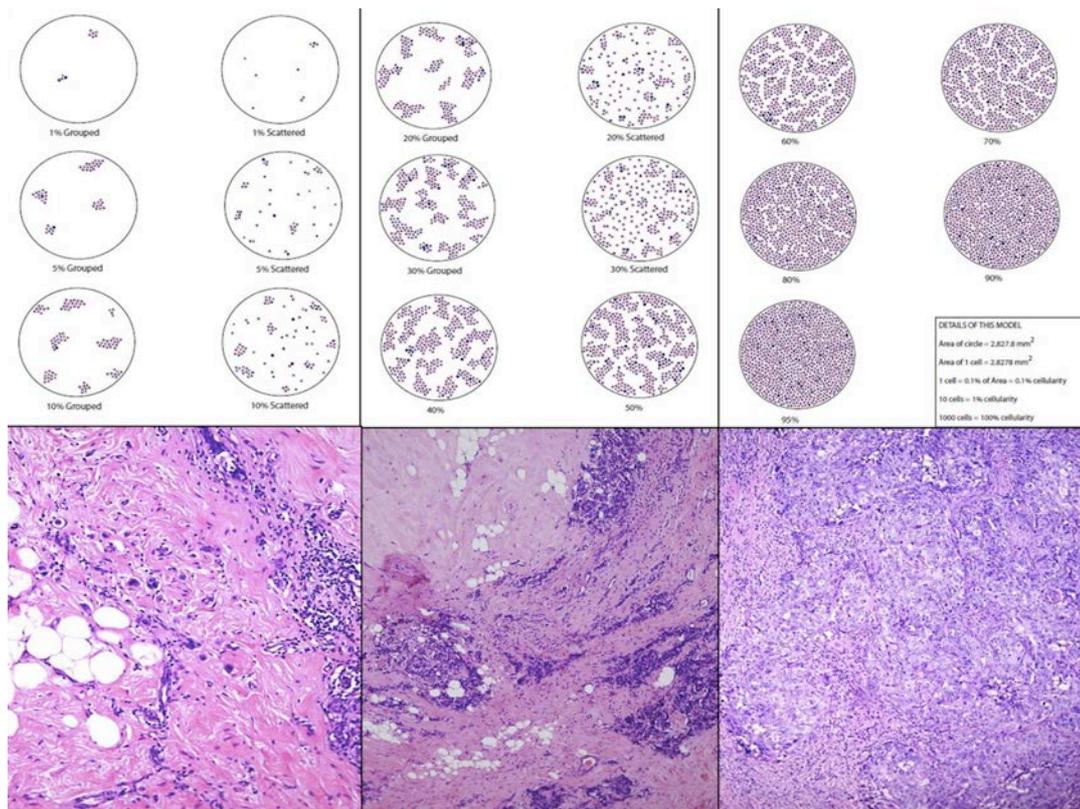


Figura 11. Ejemplos de diferentes densidades celulares en la pieza quirúrgica tras QTNA y su correlación con la guía propuesta en: <http://www3.mdanderson.org/app/medcalc/index.cfm?pagename=jsconvert3>

b) TRR (Tumor Response Ratio)⁹⁹ o tasa de respuesta tumoral. Es un cociente en cuyo numerador se refleja el diámetro tumoral residual patológico y en el denominador el diámetro tumoral clínico-radiológico. Si el cociente es 0 se considera RCP (pCR); si se sitúa entre 0,1-0,4 es una respuesta brillante (SPR, *strong partial response*); si es entre 0,4-1 es una

respuesta menor (WPR, *weak partial response*) y si >1 se considera progresión tumoral (TG, *tumor growth*). Tiene correlación pronóstica.

c) **ypTNM⁹⁸**, se evalúa con la medición del diámetro tumoral del tumor mamario, y además con la cuantificación de los ganglios afectos de tumor en la pieza quirúrgica (**Anexo 2**).

d) **Miller y Payne¹⁰⁰**, tras QTNA, considera el cambio en la densidad celular en la pieza quirúrgica, en relación a la observada en la biopsia diagnóstica. La evaluación de la respuesta a nivel ganglionar se analiza aparte y aceptan la persistencia de carcinoma in situ en la definición de RCP (**Tabla 15**).

Tabla 15. Clasificación de Miller y Payne¹⁰⁰

Evaluación de respuesta anatómo-patológica en el tumor primario	
G1	Cambios celulares mínimos sin reducción de la densidad celular
G2	Disminución discreta de la celularidad tumoral infiltrante <30% del tumor
G3	Disminución significativa de celularidad tumoral infiltrante (entre el 30-90%)
G4	Disminución marcada de la celularidad tumoral infiltrante mayor del 90% de la masa tumoral con persistencia exclusiva de focos microscópicos
G5	Ausencia de celularidad tumoral infiltrante en la mama
Evaluación de respuesta anatómo-patológica a nivel ganglionar	
Tipo A	Ganglios linfáticos sin metástasis
Tipo B	Ganglios linfáticos con metástasis y sin cambios por quimioterapia
Tipo C	Ganglios linfáticos con metástasis y evidencia de respuesta parcial
Tipo D	Ganglio linfáticos con cambios secundarios a respuesta sin infiltración neoplásica residual

Pacientes y métodos

En todas las clasificaciones mencionadas, la presencia exclusiva de CIS residual se considerará como RCP.

4.10. Consideraciones prácticas y estadísticas

Los datos clínicos, los tratamientos administrados y los resultados derivados del empleo de éstos, se obtienen a partir de la información contenida en las historias clínicas de las pacientes. Además se revisan de nuevo las respuestas tanto a nivel radiológico con la colaboración del Servicio de Radiodiagnóstico, como a nivel patológico con la colaboración del Servicio de Anatomía Patológica para que la información obtenida sea homogénea y contrastada con el conocimiento actual. La identidad de los enfermos incluidos permanecerá en todo momento oculta.

Se genera una ficha informatizada utilizando el paquete estadístico SPSS (versión 20.0). Este programa se utiliza para llevar a cabo los diferentes estudios estadísticos necesarios para el análisis de resultados y búsqueda de posibles factores pronósticos y predictores. Para la representación y análisis de las curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*) empleamos el programa MedCalc versión 15.11.4 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium).

En el análisis descriptivo se detallan las variables cualitativas (categóricas) empleando los valores absolutos y los porcentajes con los intervalos de confianza del 95% para las variables más importantes. En las variables cuantitativas (numéricas) se emplean, según los casos: la media aritmética, la desviación estándar o la mediana y los percentiles p25 y p75. En las variables cuantitativas se comprueba el ajuste de los datos a la distribución normal por medio del test de Kolmogorov-Smirnov. Para demostrar diferencias entre variables cualitativas se emplea el test de chi cuadrado o el test de Fisher, y el caso de variables numéricas el test de la t de Student o el de Mann-Whitney.

La supervivencia libre de enfermedad (SLE) se define como el intervalo desde el diagnóstico por biopsia a la primera recaída (loco-regional y/o a distancia), muerte o último seguimiento. La supervivencia global (SG) se define como el

intervalo desde el diagnóstico por biopsia y la muerte o último seguimiento, lo que ocurriera antes. Las tasas de supervivencia se calculan utilizando el método Kaplan-Meier y las diferencias entre las curvas de supervivencia con la prueba del log Rank.

Se realiza el análisis de regresión logística con el objetivo de identificar los factores predictores de respuesta completa anatómico-patológica y factores pronósticos para SG. Se seleccionan las variables que en el análisis univariante alcanzan un nivel de significación de $< 0,25$ o inferior, siguiendo el criterio de selección propuesto por Hosmer y Lemeshow¹⁴⁷; además se considera la relevancia clínica de las variables independientemente de su significación estadística. Para la construcción del modelo final se emplea el método "introducir" ("*enter*") y el método por pasos hacia atrás condicional ("*backwards*"), para seleccionar las variables del modelo que obtengan mayor capacidad predictora. Esta capacidad se evalúa por medio de la sensibilidad, especificidad y área bajo curva (AUC, *area under curve*).

Además, se efectúa un estudio comparativo de los diferentes sistemas de evaluación de respuesta y su capacidad pronóstica a largo plazo. De nuevo se analiza por medio de la sensibilidad, especificidad y AUC. Para establecer diferencias entre dos curvas ROC se empleó el procedimiento DeLong¹⁴⁸.

Resultados

5. Resultados

5.1. Características de las pacientes y de los tumores

Se incluyen 109 pacientes (110 tumores, una paciente con cáncer bilateral) que reciben QTNA con el régimen descrito de Marzo de 2004 a Marzo de 2009. La edad media de las pacientes es de 50,98 años (límites 28-78 años), y la distribución por edades (décadas) al diagnóstico queda representada en forma de histograma en el **figura 12**. Las características epidemiológicas y otras, se resumen en la **tabla 16 y 17**.

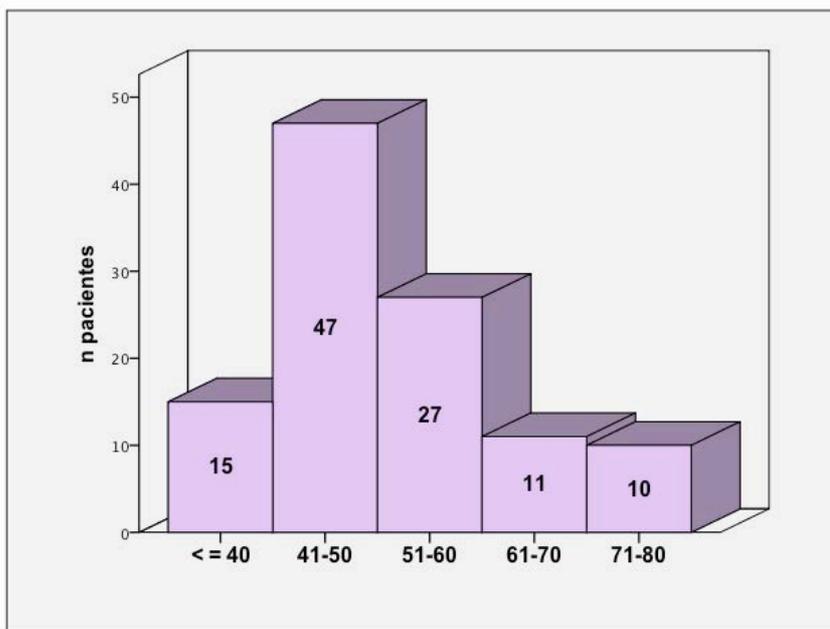


Figura 12. Histograma de edad al diagnóstico

Tabla 16. Características epidemiológicas

Datos epidemiológicos		
Edad, años (media, límites)	50,98 (28-78)	
	n	%
Menarquia		
- < 13 años	48	43,6
- 13-15 años	53	48,2
- > 15 años	4	3,6
Menopausia		
- No	69	62,7
- Sí	41	37,3
Paridad		
- Nuligesta	18	16,4
- 1-2 hijos	60	54,5
- > 2 hijos	30	27,3
- Desconocido	2	1,8
Lactancia		
- No	23	41,1
- 1-4 meses	21	37,5
- > 4 meses	12	21,4
- Desconocido	53	47,7
Anovulatorios		
- No	40	36,4
- Sí	29	26,4
- Desconocido	41	37,3
Terapia hormonal sustitutiva		
- No	88	80
- Sí	5	4,5
- Desconocido	17	15,4

Tabla 17. Otras características clínicas de la serie

Otra características de la se		
Tabaco		
- No	68	61,8
- < 10 paq-año	13	11,8
- 10-20 paq-año	13	11,8
- > 20 paq-año	16	14,5
Alcohol		
- No	99	90
- < 60 gr etanol/día	10	9,1
- > 60 gr etanol/día	1	0,9
Hipertensión		
- No	94	85,5
- Sí	16	14,5
Diabetes mellitus		
- No	105	95,5
- Sí	5	4,5
Hipercolesterolemia		
- No	96	87,3
- Sí	14	12,7
Osteoporosis		
- No	105	95,5
- Sí	5	4,5
Lesiones previas mamarias		
- No	103	93,6
- Sí	7	6,4
Antecedentes familiares		
- No	63	57,3
- Sí	47	42,7

Resultados

Sesenta y nueve pacientes (62,7%) son premenopáusicas y 47 pacientes (42,7%) tienen al menos un familiar de primer o segundo grado con CM.

El debut de la enfermedad es variable: 65 mujeres (59,1%) consultan por tumoración palpable, 31 pacientes (28,25) presentan otros síntomas como mastalgia, mastitis o telorrea y 14 mujeres (12,7%) se encuentran asintomáticas siendo el programa de cribado el que descubre la enfermedad. Al diagnóstico, se realiza mamografía y ecografía a todas las pacientes y en 75 (68,2%) además, se efectúa, una IRM.

En relación a la estadificación, 86 pacientes (78,2%) debutan como etapa II y 24 pacientes (21,8%) como etapa III. La mediana del diámetro tumoral es de 35 mm (límites 0-90). El diámetro tumoral, la afectación ganglionar, el tipo histológico (**Figura 13**) y otras características histológicas se detallan en las **tablas 18 y 19** y en la **figura 14**.

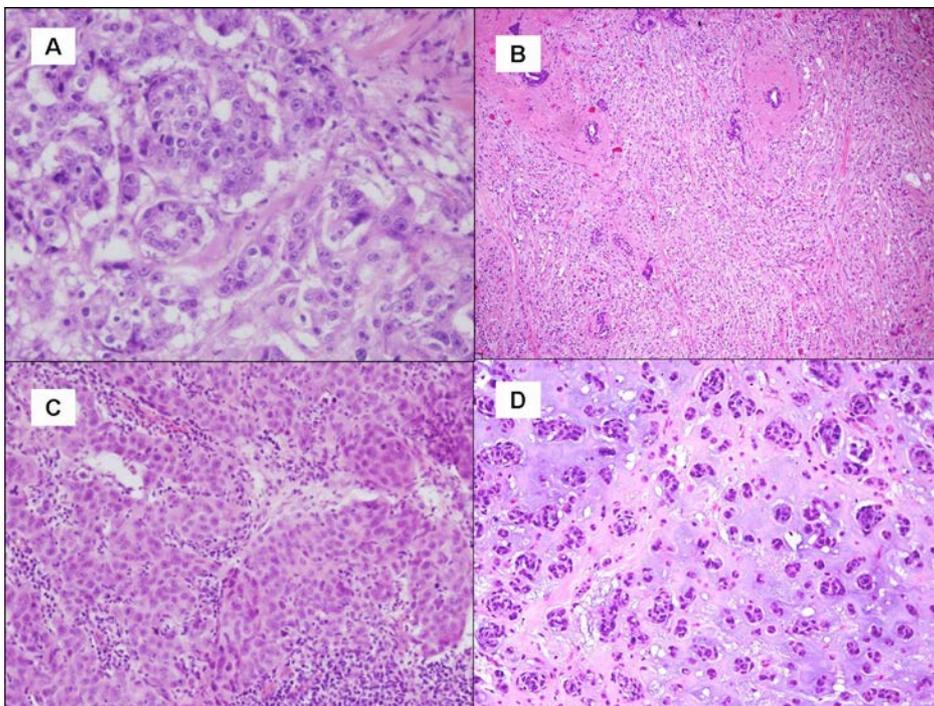


Figura 13. Diferentes tipos histológicos de la serie; A: Ductal; B: Lobulillar; C: Tipo sólido; D: Metaplásico con componente condroide.

Tabla 18. Estadificación de los tumores al diagnóstico

Características de los tumores		
Diámetro tumoral, mm (mediana), límites	35 (9-100)	
	n	%
Diámetro tumoral (T)		
- T1	2	1,8
- T2	74	67,3
- T3	21	19,1
- T4	12	10,9
Afectación ganglionar		
- N0	64	58,2
- N1	41	37,3
- N2/N3	5	4,5
Etapas		
- IIa	46	41,4
- IIb	40	36
- IIIa	11	10
- IIIb	12	10,9
- IIIc	1	0,9

Tabla 19. Características histológicas de la serie

Características histológicas	n	%
Histología		
- Ductal	85	77,3
- Lobulillar	11	10
- Otras	14	12,7
Grado Nuclear de Black biopsia		
- GN1	33	30
- GN2	61	55,5
- GN3	9	8,2
- Desconocido	7	6,4
Inmunohistoquímica		
- RE+	69	62,7
- RP+	65	59,1
- HER2+	35	31,8
Ki-67		
- < 20%	34	30,9
- ≥ 20%	74	67,3
Fenotipo		
- Luminal A	18	16,4
- Luminal B	36	32,7
- Luminal B HER2	22	20
- HER2	13	11,8
- Triple Negativo	21	19,1

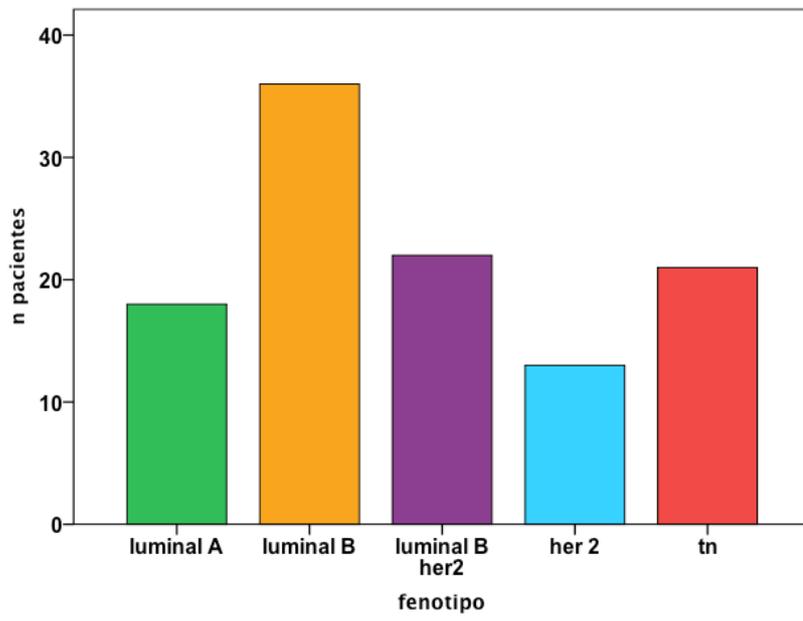


Figura 14. Representación gráfica de los fenotipos

5.2. Quimioterapia

5.2.1. Toxicidades

El régimen con carboplatino, doxorubicina y secuencialmente docetaxel es utilizado en 90 pacientes (82,7%) y en 19 (17,3%) se emplea carboplatino, doxorubicina seguido de 8 dosis semanales con paclitaxel. Las **tablas 20 y 21** resumen las principales toxicidades hematológicas y extrahematológicas. 5 pacientes (4,%) requieren transfusión de hemoderivados y 23 (20,7%) reciben eritropoyetina. A 10 pacientes (9,1%) se les administran factores estimulantes de colonias de granulocitos como profilaxis primaria y 57 pacientes (51,8%) lo reciben como profilaxis secundaria.

Tabla 20. Principales toxicidades hematológicas

Toxicidades	Grado 1-2		Grado 3-4	
	n	%	n	%
Hematológicas				
Neutropenia	50	45,4	33	30
Fiebre neutropénica	-	-	8	7,3
Plaquetopenia	14	12,7	4	3,5
Anemia	97	88,2	2	1,8

Tabla 21. Principales toxicidades extrahematológicas

Toxicidades Extrahematológicas	Grado 1-2		Grado 3-4	
	n	%	n	%
Emesis	73	66,3	10	9,1
Mucositis	45	40,9	2	1,8
Neurotoxicidad	4	3,6	1	0,9
Neurotoxicidad	4	3,6	1	0,9
Alopecia	109	100	-	-
Astenia	47	42,7	-	-
Cutáneo-ungueal	14	12,5	-	-
Mialgias-artralgias	13	11,6	-	-
Conjuntivitis	12	10,9	-	-
Diarrea	11	9,8	-	-
Reacción infusional	5	4,5	-	-
Cardíaca	2	1,8	-	-
Retención hídrica	2	1,8	-	-
Flebitis	1	0,9	-	-

5.2.2. Cumplimiento

46 pacientes (41,8%) precisaron retrasos y 56 (50,9%) reducciones de dosis. 85 pacientes (77,3%) completaron el número de ciclos previstos, 12 pacientes (10,9%) suspendieron al menos 1 ciclo de carboplatino y doxorubicina, 10 (9,1%) al menos un ciclo de docetaxel y 3 (2,7%) suspendieron al menos 1 ciclo de cada uno de los esquemas.

5.3. Respuesta clínica y radiológica

En 66 pacientes (60%) candidatas a una posible cirugía conservadora, se implanta un localizador metálico guiado por ecografía en el lecho del tumor (56 Tumark, compatible con RM y 10 Ariane, no compatible con RM). Éstos facilitan la cirugía, en caso de respuesta brillante a la QTNA, al localizar el lecho tumoral. La presencia de microcalcificaciones en 8 pacientes (7,3%) omite la colocación del clip, las propias calcificaciones son las que sirven de guía para localizar el asiento del residuo tumoral.

La siguiente tabla (**Tabla 22**), resume las respuestas clínicas y radiológicas, tanto por mamografía como por ecografía, y también por IRM, según criterios RECIST 1.1¹⁴⁶. Se muestran algunos ejemplos de respuestas radiológicas en las **figuras 15, 16, 17 y 18**.

Tabla 22. Respuesta clínica y radiológica según criterios RECIST 1.1.

Respuestas	Progresión		E. Estable		R. Parcial		R. Completa	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Clínica (n= 110)	2	1,8	16	14,5	64	58,2	28	25,5
Radiológica								
- Mamo/eco (n=37)	1	2,7	7	18,9	24	64,9	5	13,5
- IRM (n= 73)	1	1,4	4	5,5	43	58,9	25	34,2
- Ambas (n= 110)	2	1,8	9	8,2	71	64,5	28	25,5

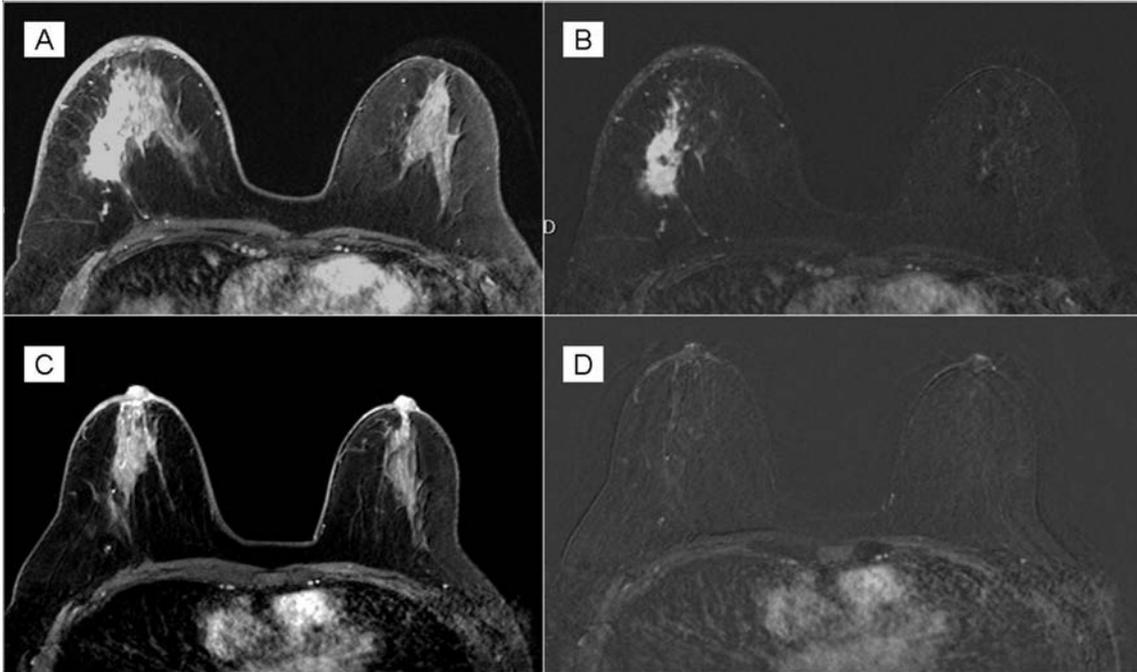


Figura 15. *Paciente con afectación extensa de la mama derecha, con un área de captación patológica de contraste mal definida en la secuencia dinámica del estudio con resonancia magnética (A), que en la imagen obtenida de la sustracción, puede verse el vacío de señal del clip de marcaje y el engrosamiento de la piel de la mama por afectación de la misma (B). Después de recibir QTNA consigue una respuesta completa al mismo, como puede verse en las imágenes hay ausencia de captación de contraste en el estudio dinámico (C) y en la sustracción desaparece tanto el realce de contraste como el edema cutáneo (D).*

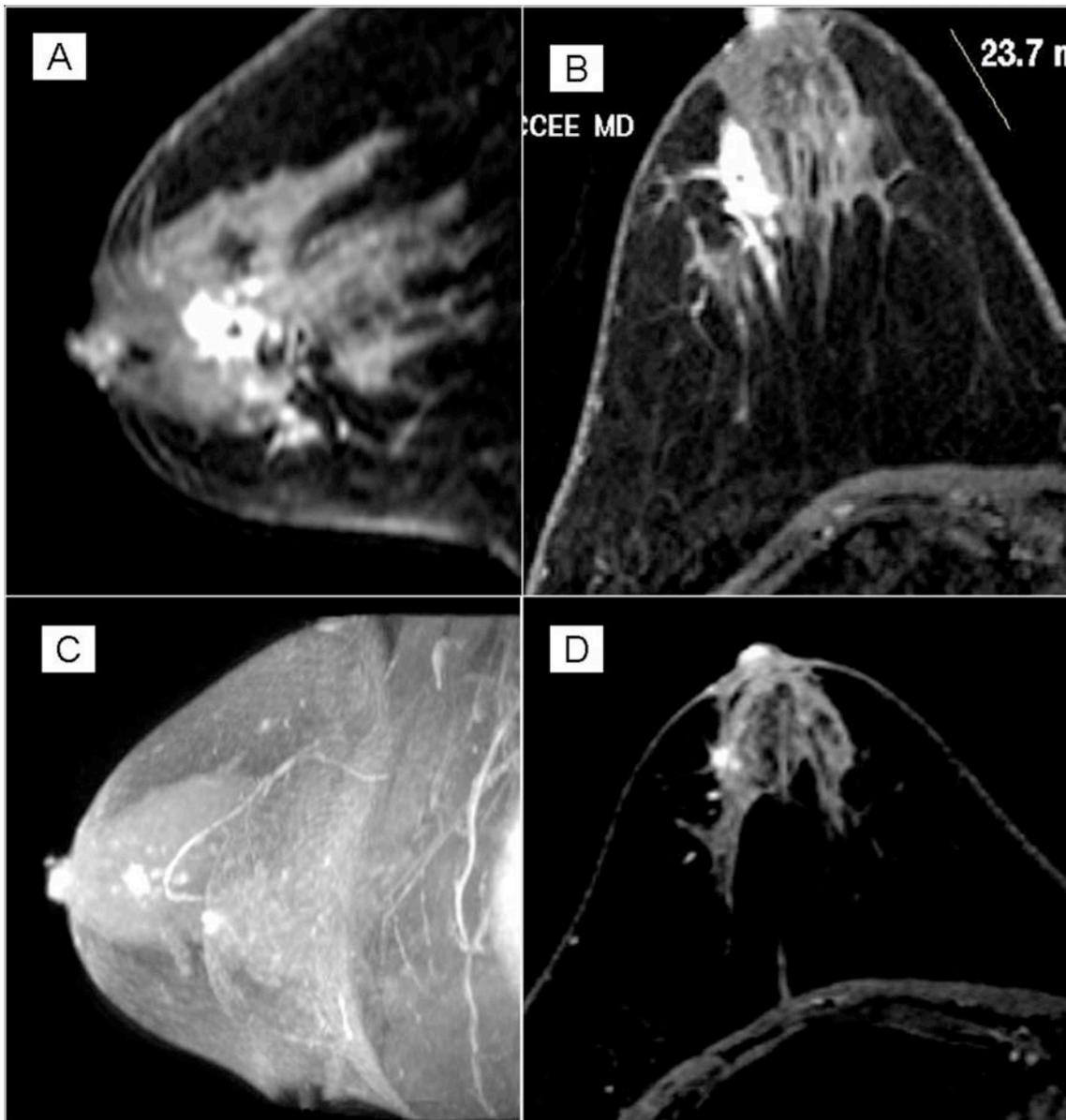


Figura 16. RM realizada como parte de la estadificación local de una paciente diagnosticada de CM: proyección sagital (A) y axial (B) de la mama derecha con área de captación parcheada de características patológicas y que se corresponde con el área biopsiada percutáneamente. En las imágenes obtenidas en la RM realizada al finalizar el tratamiento se aprecia una captación parcheada de aspecto fragmentado: proyección sagital (C) y axial (D). Se interpreta como una respuesta parcial.

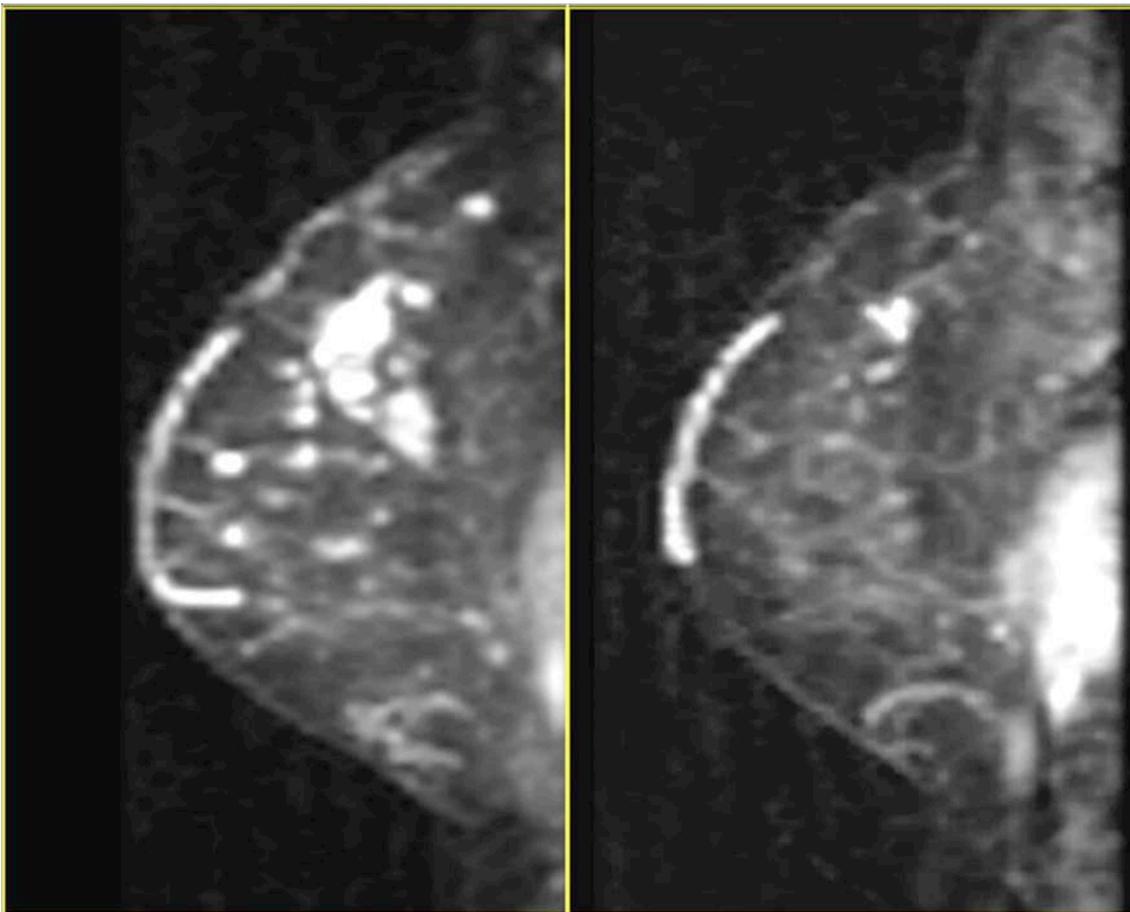


Figura 17. En este estudio realizado en la RM de 1.5 T, vemos dos proyecciones sagitales de la mama: antes del tratamiento, masa de contornos mal definidos en los cuadrantes superiores de la mama (izquierda) y resto de la lesión al finalizar los ciclos de QTNA (derecha).

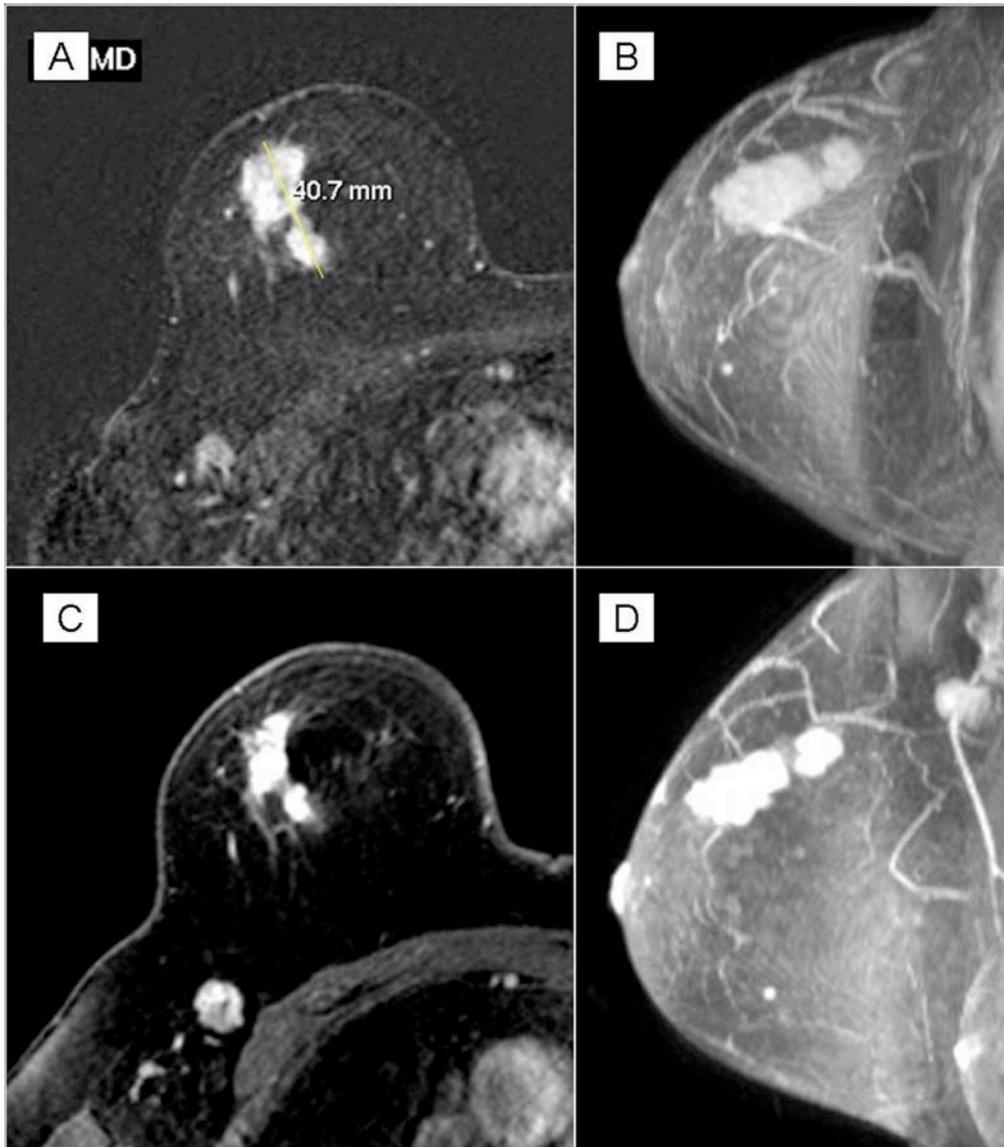


Figura 18. Estudio de RM en paciente con masa lobulada de 40 mm de diámetro mayor y contornos irregulares en el CSE de la mama derecha con adenopatía axilar patológica, ambas confirmadas con biopsia percutánea con guía ecográfica (A). Reconstrucción MIP de la secuencia dinámica realizada tras la administración de contraste en proyección sagital donde puede verse la lesión (B). Después de recibir la QTNA se realizó un control con RM y las imágenes ponen de manifiesto la estabilidad, con captación de contraste muy similar al estudio inicial tanto en la imagen del estudio dinámico (C) como en la reconstrucción MIP (D).

Por otra parte se analizaron las repuestas completas radiológicas (RCR) según los diferentes subtipos tumorales, tal y como se muestra en la **tabla 23**.

Tabla 23. Respuesta radiológica según fenotipos tumorales

	Sin Respuesta		Con Respuesta	
	Radiológica Completa		Radiológica Completa	
	n	%	N	%
Luminal A, n=18	16	88,9	2	11,1
Luminal B, n= 36	23	63,9	13	36,1
Luminal B HER2, n= 22	17	77,3	5	22,7
HER2, n= 13	12	92,3	1	7,7
TN, n= 21	12	57,1	9	42,9

Más adelante, se describen la correlación de las respuestas radiológica y anatómo-patológicas y la repercusión a largo plazo.

5.4. Cirugía

Sesenta y seis pacientes (60%) se operan con tumorectomía y 43 pacientes (39,1%) se les realiza una mastectomía radical modificada. Una paciente con IMC mayor de 30, con un carcinoma inflamatorio con fenotipo triple negativo, con toxicidad hematológica g3 y enfermedad progresiva, no es intervenida.

De las 66 pacientes tratadas con cirugía conservadora, a 59 (89,4%) se les practica una cirugía con márgenes libres, y de las 43 mujeres sometidas a mastectomía, 41 (95,3%) tuvieron cirugías sin afectación de los márgenes. Como se muestra en la **Figura 19**, la indicación de mastectomía tenía una relación directa con el diámetro tumoral. 16 pacientes tienen tumores multicéntricos o multifocales (14,5%) y de ellos la mitad se operan de forma conservadora.

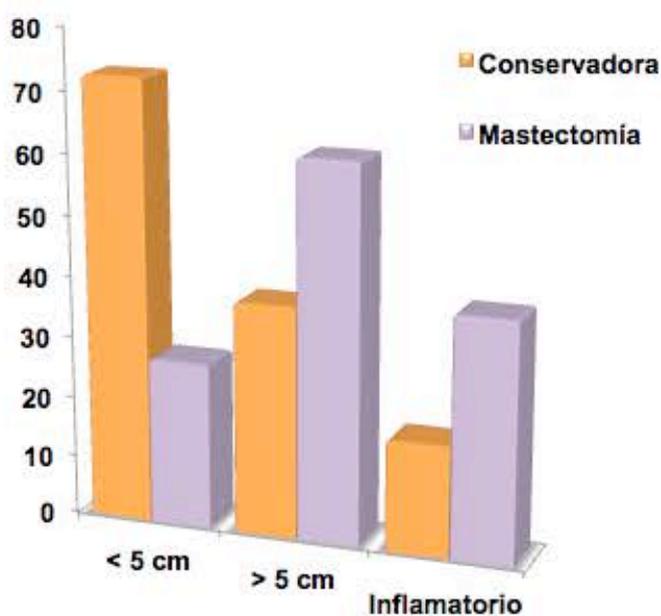


Figura 19. Tipos de cirugía según diámetro tumoral

De las 108 pacientes intervenidas (109 tumores), en 106 (97,2%) se realiza linfadenectomía y en 3 biopsia de ganglio centinela (2,8%). La mediana de ganglios extirpados es de 12 (límites 4-29).

Se llevaron a cabo varias técnicas rectoras: dorsal ancho en 18 pacientes (16,1%); prótesis mamaria en 4 (3,6%); prótesis y dorsal ancho en 4 pacientes (3,6%); mamoplastia de reducción en 2 pacientes (1,8%) y reconstrucción diferida en 9 (8,1%).

5.5. Respuesta anatomo-patológica

Las RCP alcanzadas con carboplatino, doxorubicina y taxanos son del 17,3%, considerando como RCP la ausencia de tumor infiltrante en la mama y en los ganglios axilares y permitiéndose componente in situ (ypT0/is ypN0). La respuesta anatomo-patológicas es del 23%, cuando sólo se evalúa el tumor mamario, independientemente de la afectación ganglionar. Por otra parte, cuando se consideran las RCP según la primera definición, junto con las “casi” completas (residuo microscópico en la mama) se alcanzan cifras del 37,3%.

En la **figura 20** se muestran algunos ejemplos de respuestas anatomo-patológicas brillantes y los efectos provocados por la QT.

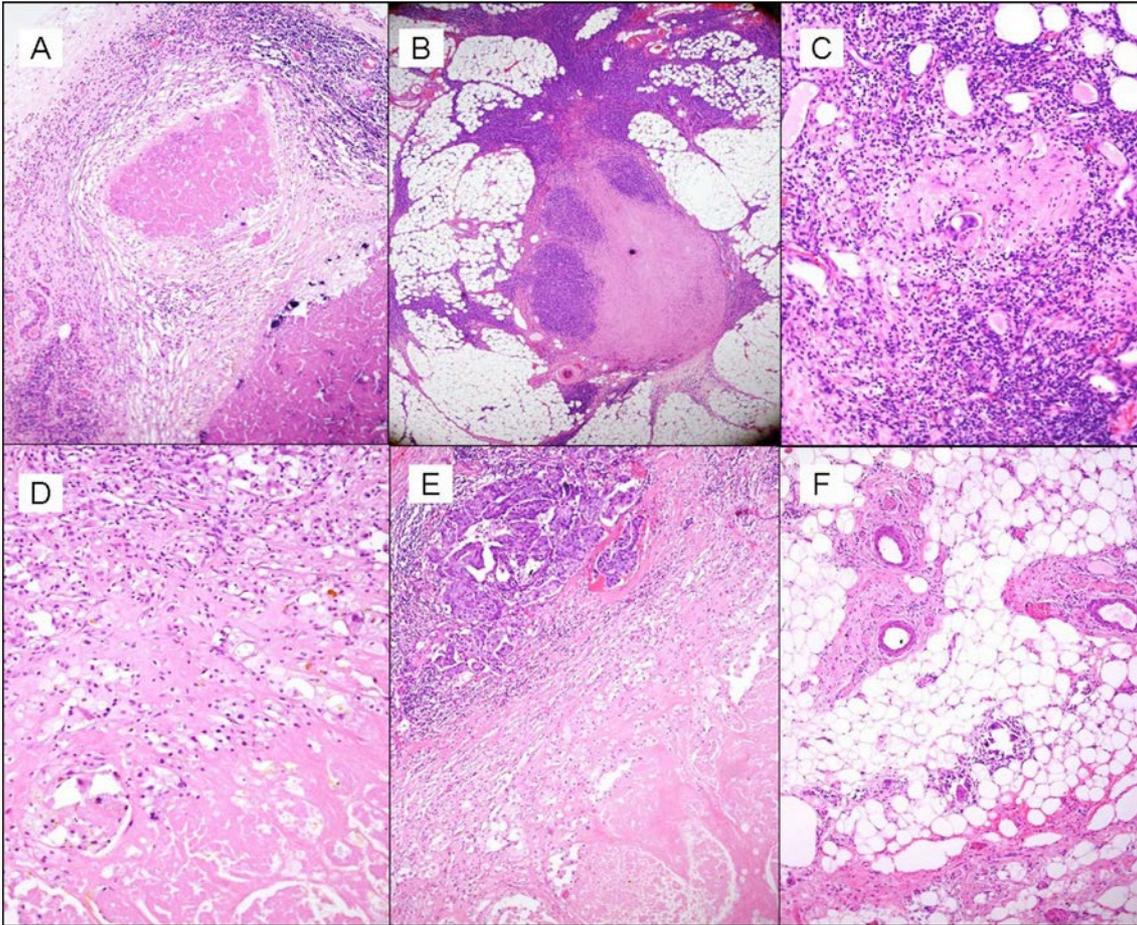


Figura 20. Ejemplos de respuestas anatomo-patológicas: necrosis y ausencia de células tumorales (A); hialinización y células tumorales (B); células tumorales aisladas (C); necrosis y macrófagos (D); necrosis y persistencia de grupos celulares (E); ausencia de células tumorales y presencia de células gigantes reactivas (F).

En la siguiente tabla (**Tabla 24**) se resumen las respuestas anatomo-patológicas según cuatro de los sistemas de evaluación: RCB (*Residual Cancer Burden*); TRR (*Tumoral Response Ratio*), Miller y Payne y según el TNM patológico (ypT ypN).

Tabla 24. Respuesta anatómo-patológica según las diferentes clasificaciones

Sistemas de Evaluación de Respuesta	Respuestas	
	n	%
RCB (Residual Cancer Burden)		
- pCR	19	17,3
- RCB-I	22	20
- RCB-II	47	42,7
- RCB-III	17	15,5
- Desconocido	5	4,5
TRR (Tumor Response Rate)		
- pCR	26	23,6
- SPR, respuesta brillante	38	34,5
- WPR, respuesta mala	32	29,1
- TR, progresión	9	8,2
- Desconocido	5	4,5
Miller y Payne en Mama		
G1, no respuesta	8	7,3
G2, respuesta pobre	32	29,1
G3, respuesta intermedia	24	21,8
G4, sólo quedan células aisladas	20	18,2
G5, respuesta completa	26	23,6
Miller y Payne en Ganglio		
A, sin metástasis	41	37,3
B, con metástasis sin cambios	17	15,5
C, con metástasis y cambios	34	30,9
D, sin metástasis y cambios	13	11,8
Desconocido	5	4,5

Tabla 24. Respuesta anatómo-patológica según las diferentes clasificaciones (continúa)

Sistemas de Evaluación de Respuesta	Respuestas	
	n	%
ypT		
pTx	0	0
pT0/Tis	26	23,6
pT1	63	57,3
pT2	17	15,5
pT3	3	2,7
pT4	0	0
Desconocido	1	0,9
ypN		
pN0	52	47,3
pN1	39	35,5
pN2	11	10
pN3	7	6,4
Desconocido	1	0,9

Las repuestas anatómo-patológicas según el sistema de evaluación **RCB** propuesto por Symmans *et al.*¹⁰¹ se reflejan en la **tabla 24**. En 5 pacientes no está disponible esta información, bien porque se han intervenido en otro centro (n=4) o porque no se llegaron a operar por enfermedad progresiva (n=1).

En la siguientes imágenes (**Figura 21, 22 y 23**) se ejemplifican algunos casos con diferentes respuestas anatómo-patológicas a la QTNA según la densidad celular del componente infiltrante (veáse también **Anexo 5**). Además del diámetro tumoral (2 diámetros) y la densidad celular del componente infiltrante, ya mencionada, se mide la presencia de CIS y su densidad celular (**Figura 24**)

y asimismo el diámetro mayor de la metástasis ganglionar si la hubiera (**Figura 25**).

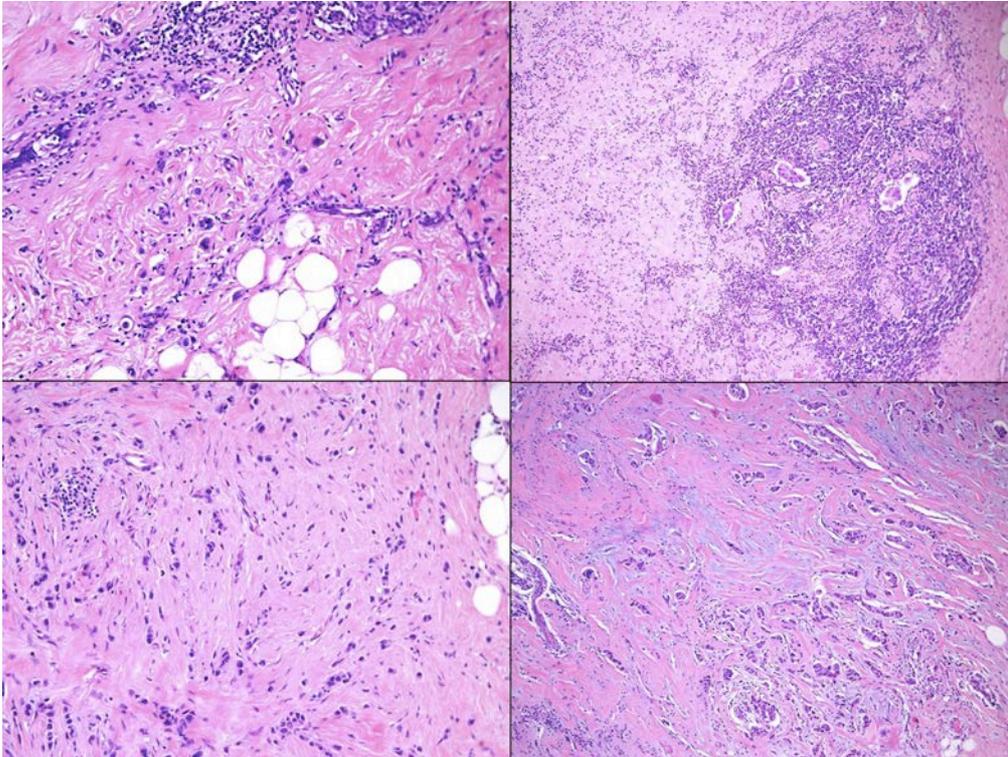


Figura 21. Distintos ejemplos con persistencia de células aisladas tumorales en la pieza quirúrgica. Son tumores catalogados como RCB I.

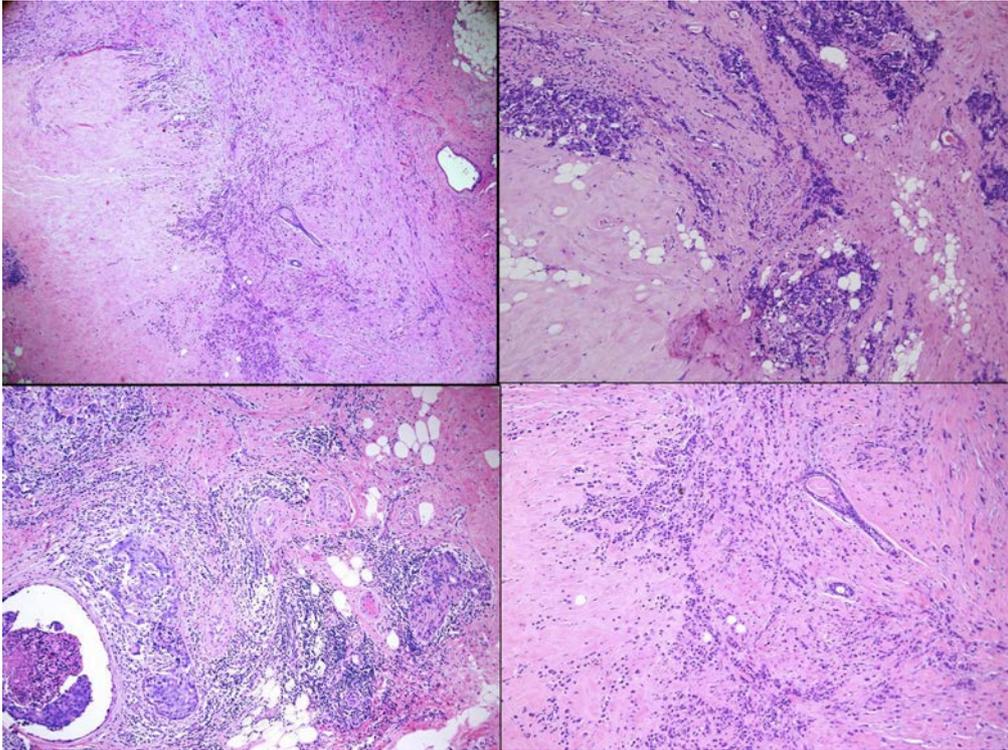


Figura 22. Imágenes de tumores etiquetados como RCB II: persistencia de grupos celulares (densidad celular moderada)

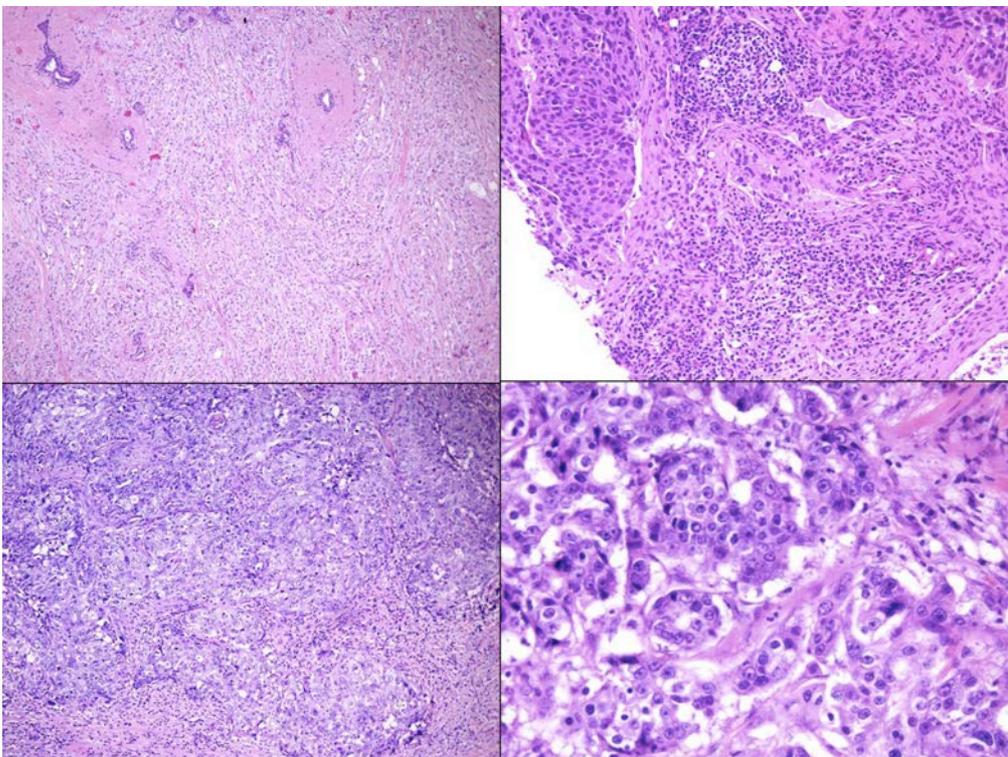


Figura 23. Persistencia tumoral con gran densidad celular del componente infiltrante en la pieza quirúrgica (tumores con RCB III)

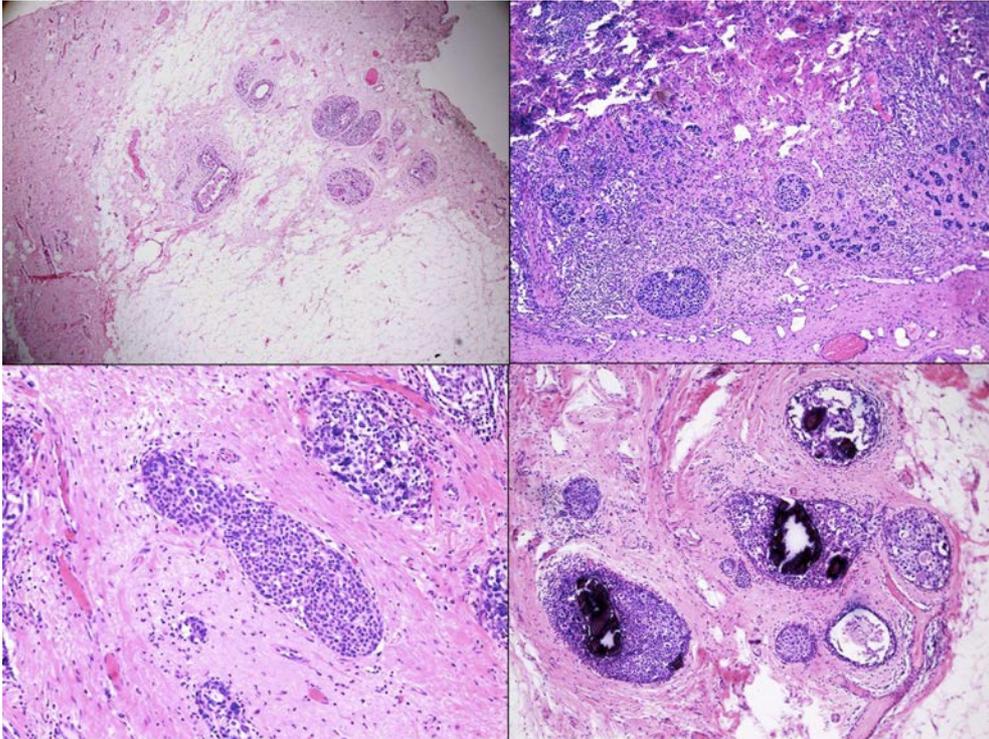


Figura 24. Ejemplos de componente in situ, su densidad celular también se valora en el RCB.

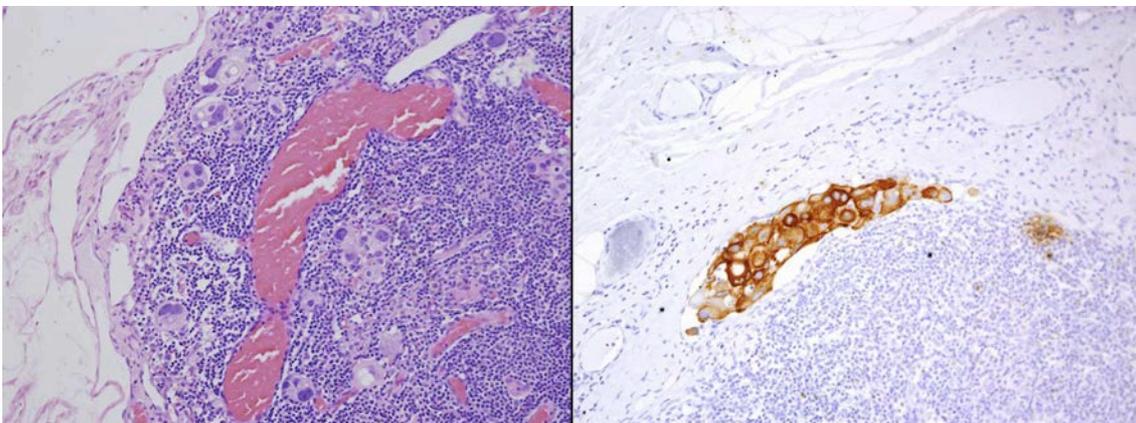


Figura 25. Afectación tumoral ganglionar. A la derecha: tinción IHQ con Citoqueratina para comprobar la persistencia tumoral microscópica

Cuando se evalúa el diámetro tumoral y la afectación ganglionar antes y después de la QTNA, según criterios TNM, se obtienen los resultados reflejados en la **Tabla 25**, que se representan gráficamente (**Figura 26 y 27**). Un 67,3% de los tumores se diagnostican con diámetros tumorales que varían

entre 2 y 5 cm (T2), en cambio tras el tratamiento preoperatorio, en un 23,6% se alcanzan respuesta completas (T0/Tis) y en un 57,3% el diámetro tumoral será inferior a 2 cm (T1). La QT consigue una disminución en el estadio en el tumor primario, pero este hecho no se confirma en la axila. Hay un incremento del 6,4% y del 5,5% en el compromiso ganglionar N2 y N3, respectivamente; el 1,8% se convierten de N1 a N0 y el 10,9% de N0 a N1.

De la misma forma, se representa la estadificación pre y posquimioterapia en la **Figura 28**: se objetiva un “downstaging” por etapas. Un 78,2% de los tumores debutan como etapas II, y después del tratamiento hay un 17,3%, un 29,1% y un 35,5% de etapas 0, I y II respectivamente.

Tabla 25. TNM antes y después de la QTNA

TNM	Basal		ypT	
	n	%	n	%
Tx	1	0,9	0	0
T0/Tis	0	0	26	23,6
T1	2	1,8	63	57,3
T2	74	67,3	17	15,6
T3	21	19,1	3	2,7
T4	12	10,9	0	0
N	Basal		ypN	
N0	64	58,2	52	47,3
N1	41	37,3	39	35,5
N2	4	3,6	11	10
N3	1	0,9	7	6,4
Etapa	Basal		ypTNM	
0	0	0	19	17,3
I	0	0	32	29,1
II	86	78,2	39	35,5
III	24	21,8	19	17,3

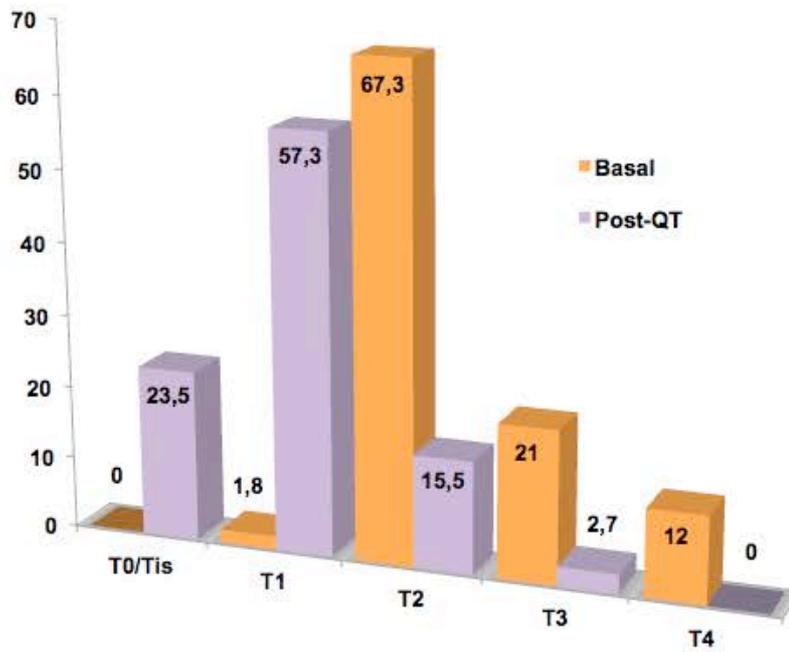


Figura 26. Diámetro (T) antes y después de la QTNA

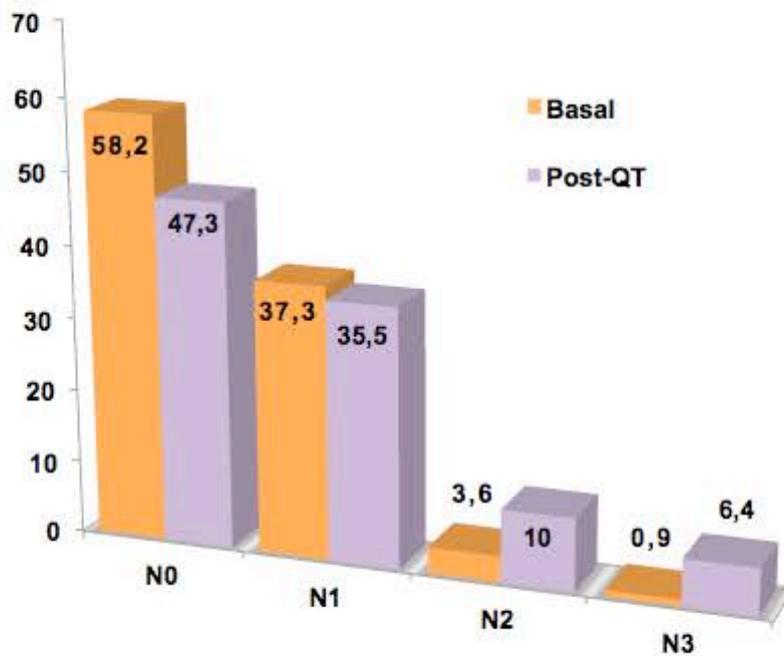


Figura 27. Ganglios axilares (N) antes y después de la QTNA.

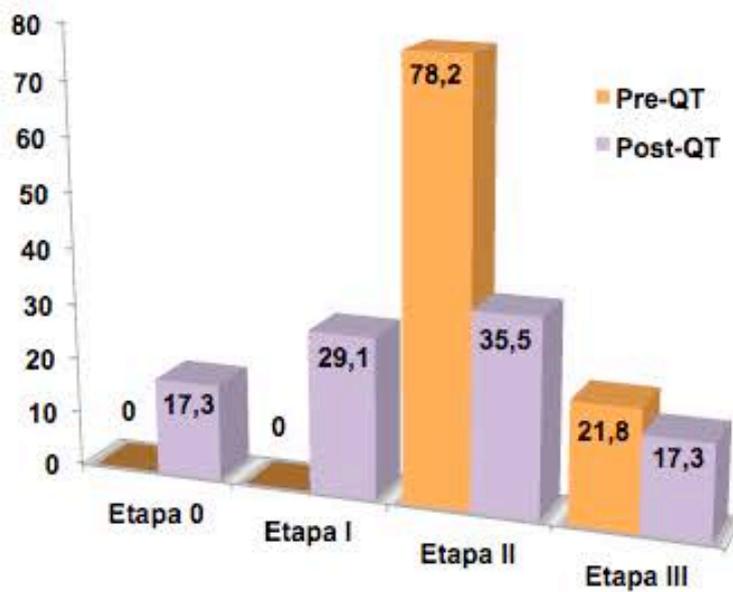


Figura 28. Etapas antes y después de la quimioterapia. Se observa cómo mejora la estadificación tras la quimioterapia.

5.5.1. Respuesta anatómo-patológica según fenotipos

A continuación se describen las respuestas anatómo-patológicas según el sistema de evaluación de respuesta RCB, según los diferentes fenotipos (**Tabla 26**).

Tabla 26. Respuesta anatómo-patológica según RCB y fenotipos

	Lumin A		Lumin B		Lumin B HER2		HER2		TN	
	n	%	n	%	n	%	N	%	n	%
pCR	0	0	8	22,2	1	4,5	4	30,8	6	28,6
RCB-I	2	11,1	6	16,7	7	31,8	5	38,5	2	9,5
RCB-II	13	72,2	15	41,7	12	54,5	1	7,7	6	28,6
RCB-III	2	11,1	6	16,7	2	9,1	2	15,4	5	23,8
Desconocido	1	5,6	1	2,8	0	0	1	7,7	2	9,5
Total	18	100	36	100	22	100	13	100	21	100

La tasa de pCR en tumores HER2 y TN es del 30,8% y del 28,6%, respectivamente. En los tumores luminales A no se objetivan pCR. Si se consideran las pCR junto con las respuestas “casi completas” (RCB-I), en los tumores HER2 se obtienen un 69,3% de respuestas y en los luminales B y en los TN un 38,9% y 38,1%, respectivamente de respuestas anatómo-patológicas.

5.5.2. Comparación RCR y RCP

En la **Tabla 27** se describe la concordancia entre el diámetro por RM post-quimioterapia y el diámetro patológico (pieza quirúrgica), considerándose “concordancia” si la diferencia en el diámetro tumoral no excede al centímetro.

La concordancia en todos los fenotipos es del 62,2%, pero alcanza el 71,4% y el 92,9% en los fenotipos HER2 y TN, respectivamente.

Tabla 27. Concordancia entre el diámetro por RM post-QT y el patológico

Fenotipo	Concordancia diámetro RM frente Patológico					
	Sí		Sobreestima		Infraestima	
	n	%	n	%	n	%
Luminal A	7	50	1	7,1	6	42,9
Luminal B	13	54	5	20,8	6	25,0
Luminal B HER2	8	53,3	3	20,0	4	26,7
HER2	5	71,4	2	28,6	0	0
TN	13	92,9	0	0	1	7,1

Si atendemos exclusivamente a la tasa de respuestas completas radiológicas por IRM y las comparamos con las anatomo-patológicas, podemos apreciar que hasta un 14,3% de los tumores luminales A alcanzan RCR sin traducción anatomo-patológica. En cambio en los tumores TN la correlación radiológica-anatomo-patológica es muy alta (**Tabla 28**).

Tabla 28. Respuesta radiológica y anatomo-patológica según fenotipos

	Respuesta Completa Radiológica (IRM)		Con Respuesta Completa Anatomo-patológica	
	n	%	n	%
	Luminal A	4	14,3	0
Luminal B	10	35,7	8	22,9
Luminal B HER2	5	17,9	1	4,5
HER2	1	3,6	6	46,2
TN	6	28,6	6	27,3

5.5.3. Factores predictores de RCP: Análisis univariante y multivariante

El **Anexo 6** ofrece los resultados de todas las variables investigadas en el análisis univariante. La **Tabla 29** resume el análisis univariante de los factores predictores de RCP que alcanzaron un nivel de significación de 0,25 o menor.

El análisis multivariante utilizando el método “enter” y el modelo de selección automática de variables “hacia atrás condicional” se muestra en las **Tablas 30 y 32**. Además se representan las curvas ROC en las **Figuras 29 y 30**, y en las **Tablas 31 y 33** se mencionan los datos más relevantes de este análisis.

Tabla 29. Resultados del análisis univariante de las variables que alcanzaron un nivel de significación de 0,25 o menor

Epidemiológicos	P	Odds Ratio	IC (95%)
Gestaciones			
- Nuligesta	0,096	-	-
- 1-2	0,105	0,176	0,022-1,441
- > 2	0,595	0,529	0,051-5,513
Lactancia			
- no	0,207	-	-
- 1-4 meses	0,033	0,091	0,010-0,820
- 4-8 meses	0,128	0,136	0,010-1,772
- 8-12 meses	0,999	73430674,7	0,000-
Diabetes Mellitus	0,193	0,290	0,045-1,867
Hipercolesterolemia	0,240	0,463	0,128-1,671
Osteoporosis	0,193	3,451	0,536-22,235
Antecedentes familiares	0,147	2,101	0,771-5,727
Relacionados con tratamiento	P	Odds Ratio	IC (95%)
Plaquetopenia	0,181	4,135	0,516-33,150
EPO	0,098	5,739	0,724-45,484
G-CSF	0,216	0,498	0,165-1,501
Relacionados con el tumor	P	Odds Ratio	IC (95%)
Grado nuclear biopsia			
- GN1	0,013	-	-
- GN2	0,003	5,238	1,741-15,759
- GN3	0,999	923128482	0,000-
Presencia de CIS	0,156	2,091	0,754-5,795
RE	0,133	2,151	0,792-5,843
RP	0,103	2,305	0,844-6,297
Ki-67	0,025	10,607	1,353-83,148
TIL biopsia (LPBC)	0,001	5,917	2,002-17,448

Tabla 30. Resultados del análisis multivariante de los factores predictores de RCP utilizando método “enter”

Factores predictores RCP	P	Odds Ratio	IC (95%)
Grado nuclear biopsia			
- GN1	0,104	-	-
- GN2	0,033	4,192	1,120-15,692
- GN3	0,999	217910066,8	0,000-
Ki-67	0,998	314930710	0,000-
TIL biopsia (LPBC)	0,132	4,023	0,656-24,656
RE	0,623	0,690	0,156-3,039
RP	0,823	1,179	0,279-4,986

Se descartan algunos factores epidemiológicos ya que restringían la muestra a 50 pacientes (información no disponible en varias pacientes de la serie). Con las 5 variables seleccionadas por el método “enter” (grado nuclear de Black, Ki-67, TIL en biopsia, RE y RP), se estudia su sensibilidad (S), especificidad (E) y área bajo curva. Son candidatas 102 pacientes (RCP 18 pacientes (17,65%) y sin RCP 84 (82,35%). El área bajo la curva ((AUC) es del 0,846 (**Figura X**).

Tabla 31. AUC (Curva ROC) con los factores predictores seleccionados por método “enter” e índice de Youden

AUC (Curva ROC)	0,846
Error estándar	0,0408
IC 95%	0,761-0,910
Significación estadística p (área 0,5)	<0,0001
Índice de Youden	S: 60,71 E: 100

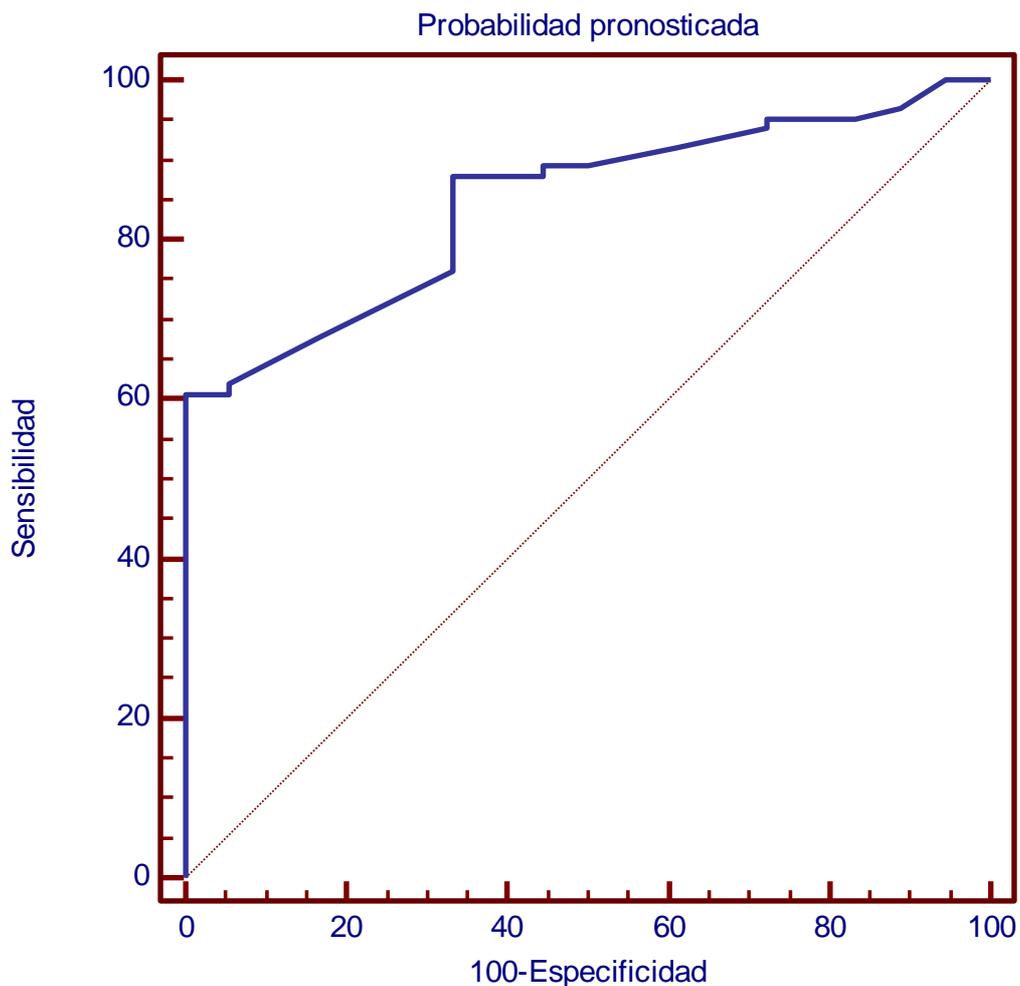


Figura 29. Curva ROC para factores predictores de RCP seleccionados utilizando el método “enter”

Posteriormente, se lleva a cabo el mismo análisis pero por el modelo de selección automática de variables “hacia atrás condicional”. En esta ocasión el sistema se queda con tres variables (grado nuclear de Black, Ki-67 y TIL en la biopsia) (**Tabla 39**). De la misma forma, se realiza el análisis de sensibilidad, especificidad y área bajo la curva y los resultados se reflejan en la **Tabla 40**. El área bajo la curva ((AUC) es del 0,854 (**Figura 30**).

Tabla 32. Resultados del análisis multivariante de los factores predictores de RCP utilizando el modelo de selección automática de variables “hacia atrás condicional”

Factores predictores RCP	P	Odds Ratio	IC (95%)
Grado nuclear biopsia			
- GN1	0,112	-	-
- GN2	0,036	4,053	1,093-15,025
- GN3	0,999	207892445,2	0,000-
Ki-67	0,998	305439205,8	0,000-
TIL biopsia (LPBC)	0,122	4,161	0,685-25,295

Tabla 33. AUC (Curva ROC) con factores predictores seleccionados por el modelo de selección automática de variables “hacia atrás condicional” e índice de Youden

AUC (Curva ROC)	0,854
Error estándar	0,0388
IC 95%	0,770-0,916
Significación estadística p (área 0,5)	<0,0001
Índice de Youden	S: 72,62 E: 83,33

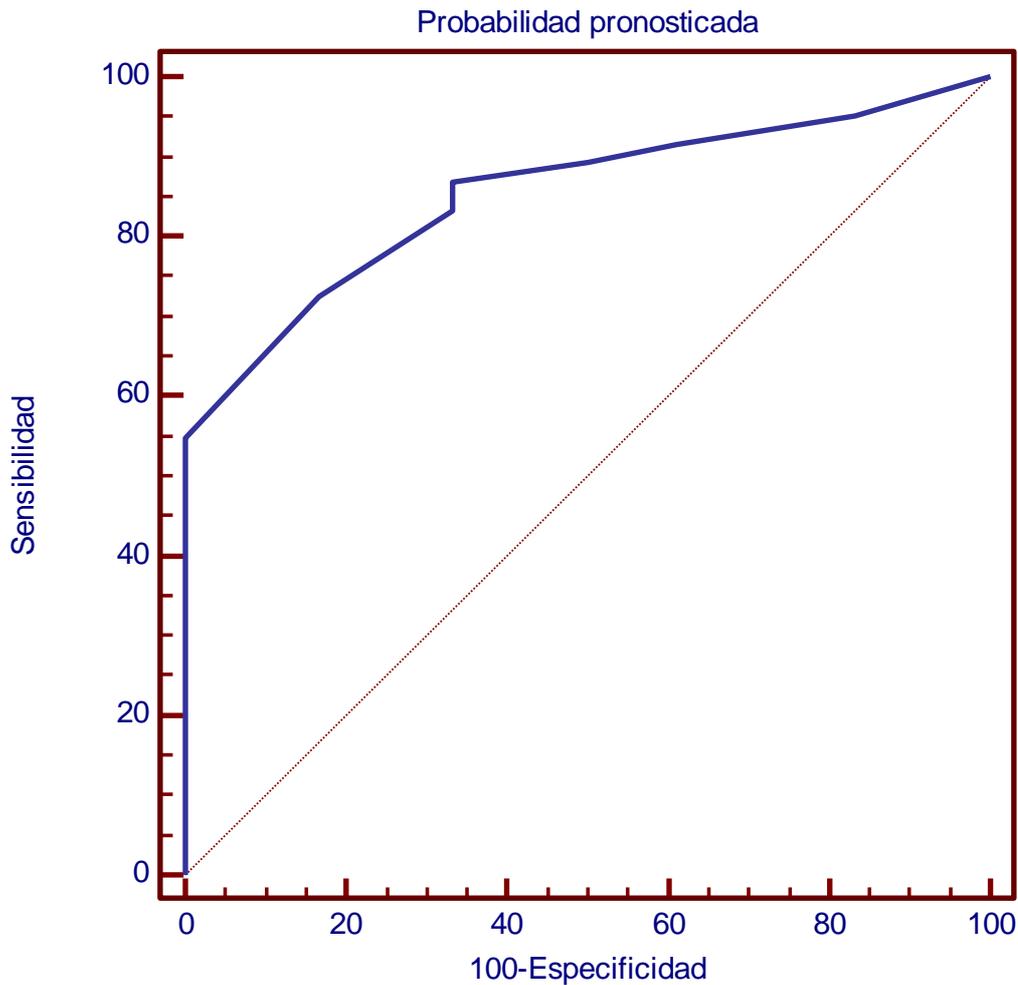


Figura 30. Curvas ROC para factores predictores de RCP utilizando el modelo de selección automática de variables “hacia atrás condicional”

Por último se realiza otro análisis utilizando el modelo de selección automática de variables “hacia atrás condicional” y a los tres factores seleccionados ya mencionados, se añade otro, p53, que consideramos tiene relevancia clínica por un análisis previo realizado (**Tabla 34**). Son candidatas 98 pacientes (RCP 17 pacientes (17,35%) y sin RCP 81 (82,65%). El área bajo la curva ((AUC) es del 0,901 (**Tabla 35 y Figura 31**).

Tabla 34. Resultados del análisis multivariante de los factores predictores de RCP, utilizando el modelo de selección automática de variables “hacia atrás condicional” y añadiendo un factor (p53) por criterio clínico

Factores predictores RCP	P	Odds Ratio	IC (95%)
Grado nuclear biopsia			
- GN1	0,038	-	-
- GN2	0,011	8,319	1,638-42,256
- GN3	0,999	317237868,2	0,000-
Ki-67	0,998	323209866,3	0,000-
TIL biopsia (LPBC)	0,141	4,599	0,604-35,047
p53	0,008	8,447	1,764-40,463

Tabla 35. AUC (Curva ROC) con factores predictores seleccionados por el modelo de selección automática de variables “hacia atrás condicional” y añadiendo un factor (p53) por relevancia clínica e Índice de Youden

AUC (Curva ROC)	0,901
Error estándar	0,0325
IC 95%	0,824-0,952
Significación estadística p (área 0,5)	<0,0001
Índice de Youden	S: 75,31 E: 94,12

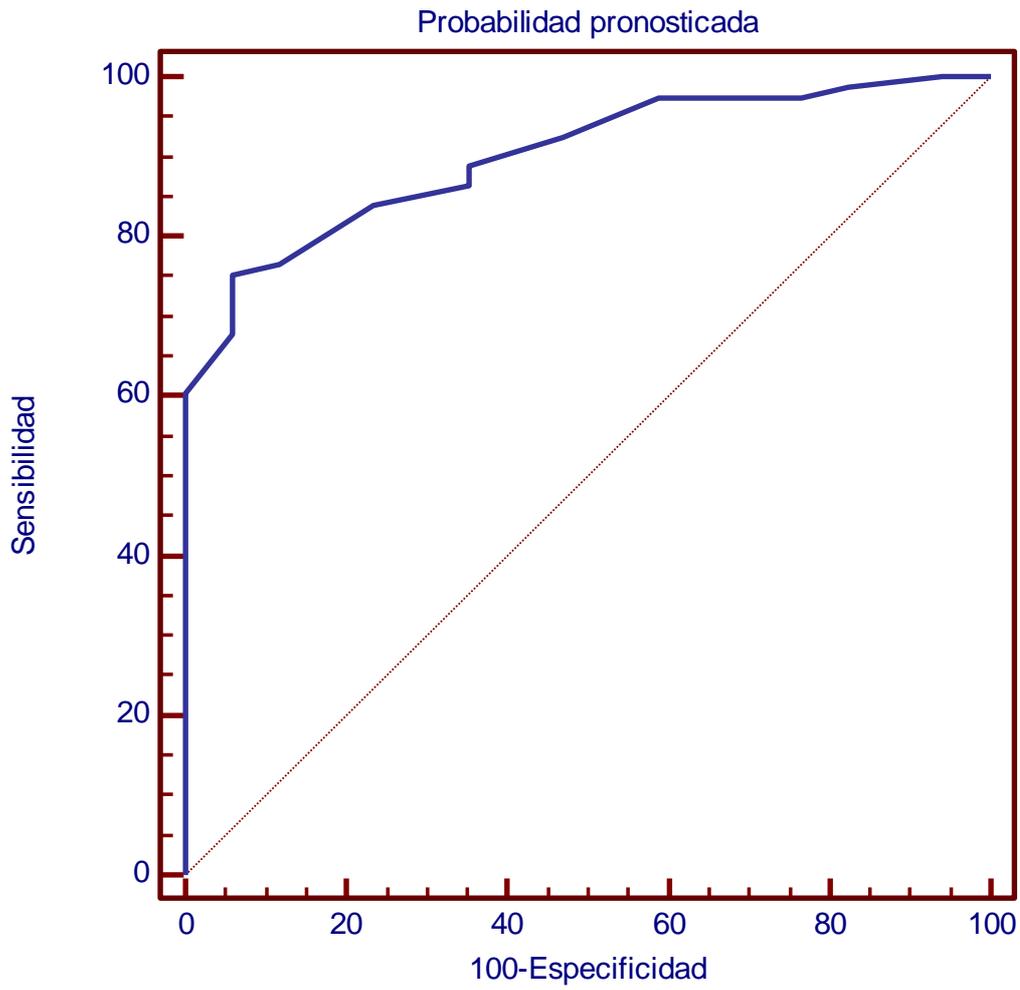


Figura 31. Curvas ROC para factores predictores de RCP utilizando el modelo de selección automática de variables “hacia atrás condicional” y añadiendo un factor seleccionado por relevancia clínica.

5.6. Radioterapia, hormonoterapia y trastuzumab

Reciben radioterapia loco-regional complementaria el 95,5% de las pacientes (n= 63) en las que se practica una cirugía conservadora, y en el 72,1% (n=31) de las pacientes sometidas a mastectomía.

81 pacientes recibieron hormonoterapia adyuvante: 76 tumores expresaban RH y aunque, otros 5 no eran tumores hormonosensibles recibieron bloqueo hormonal por criterio clínico (2 con fenotipo HER2 y 3 tumores TN). Las diferentes opciones terapéuticas se describen en la **tabla 36**.

Tabla 36. Tipo de hormonoterapia recibida

Tipo hormonoterapia	n	%
Sin hormonoterapia	29	26,4
Tamoxifeno	36	32,7
Tamoxifeno y análogo LHRH	10	9,1
Inhibidores de aromatasa		
- Letrozol	15	13,6
- Anastrozol	14	12,7
Secuencia: Tamoxifeno e inhibidor de aromatasa	6	5,5

Recibieron trastuzumab adyuvante un total de 30 pacientes (27,3%). Un total de 8 pacientes (falsos positivos) sin sobreexpresión o amplificación de HER2 recibieron trastuzumab y 13 pacientes con expresión/amplificación de HER2 no lo recibieron. Ninguna paciente recibió trastuzumab neoadyuvante.

5.7. Otros datos histológicos

El porcentaje de invasión vascular, perineural y la presencia de rotura capsular ganglionar evaluado en la pieza quirúrgica queda reflejado en la **tabla 37**. La **figura 32** muestra imágenes de permeación vascular.

Tabla 37. Porcentajes de invasión vascular, perineural y rotura capsular en la serie

	Sí		No	
	n	%	N	%
Invasión vascular	13	11,8	96	87,3
Invasión perineural	6	5,5	103	93,6
Rotura capsular	22	20	88	80

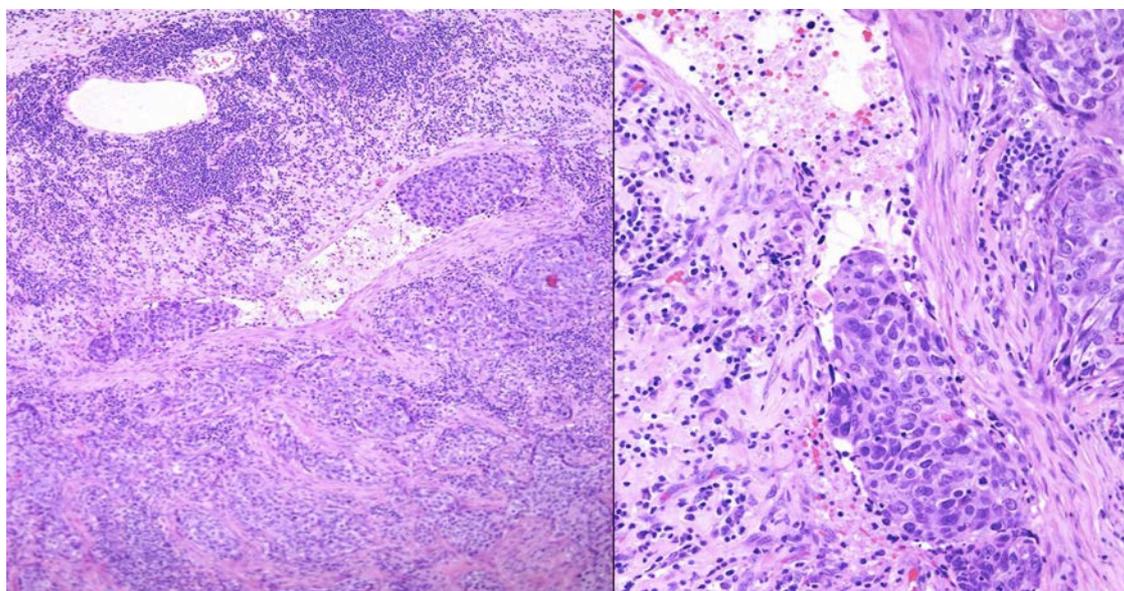


Figura 32. Ejemplos de permeación vascular

5.8. Supervivencia

5.8.1. Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global

a) Supervivencia Libre de Enfermedad (SLE)

La mediana mediana de seguimiento es de 8,24 años (límites 0,5-11,88 años) y la media de 7,22 años (IC 95%). La **figura 33** muestra la curva de SLE de las pacientes tratadas en la serie. Se han producido 34 recaídas y el 68,5% de las pacientes están libres de recaída.

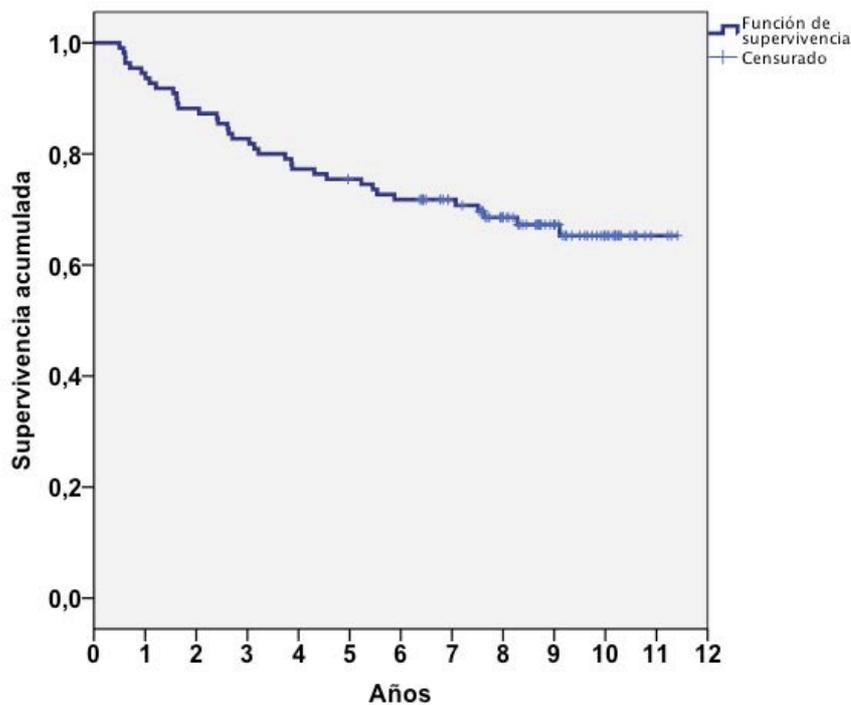


Figura 33. Curva de supervivencia libre de enfermedad

En la **tabla 38**, se presenta los estadísticos descriptivos (media, desviación típica, mediana y p75-p25) según el fenotipo, para SLE. Y en la **figura 34** se representa un diagrama de barras atendiendo al fenotipo y la SLE.

Tabla 38. Tabla X: Estadísticos descriptivos de los fenotipos tumorales para SLE

Subtipos tumorales	N	Media	DE	Mediana	p75-p25
Luminal A	18	8,57	1,97	8,89	10,23-7,26
Luminal B	35	7,76	2,48	8,31	9,65-6,43
Luminal B HER2	22	7,42	3,00	8,47	9,37-4,66
HER2	13	6,47	4,19	7,94	10,12-1,60
TN	21	5,24	3,65	6,85	8,66-1,03

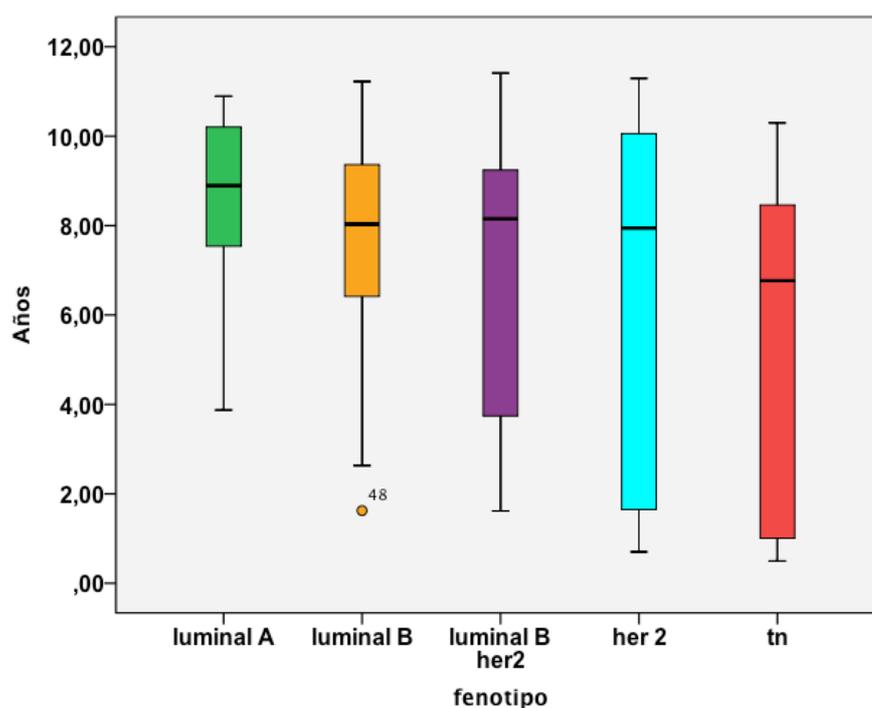


Figura 34. Diagrama de barras según fenotipo y supervivencia libre de enfermedad.

Hasta la fecha del análisis, en 74 pacientes (67,3%) no se ha producido una recaída. Del resto, 5 pacientes (4,5%) han recaído exclusivamente a nivel local, 26 pacientes (23,6%) a nivel sistémico y 5 pacientes (4,5%) lo han hecho de forma simultánea a nivel local y sistémico. A 10 mujeres se les diagnóstica un

segundo tumor primario: en 8 de ellas cánceres mamarios y en 2 tumores colónicos.

b) Supervivencia Global (SG)

La mediana de seguimiento es de 8,69 años (límites 0,81-11,41 años). La media es de 7,9 años. En el momento de este análisis han fallecido 23 pacientes, y siguen vivas el 78,9% de las pacientes, como se refleja en la **figura 35**. El histograma del **figura 36** representa la frecuencia de los eventos a lo largo del tiempo.

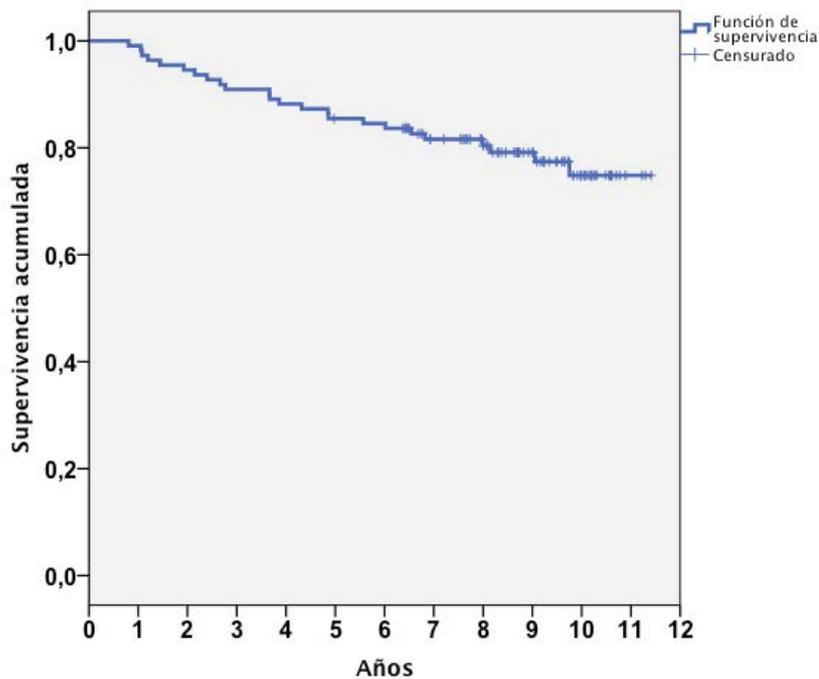


Figura 35. Curva de supervivencia global

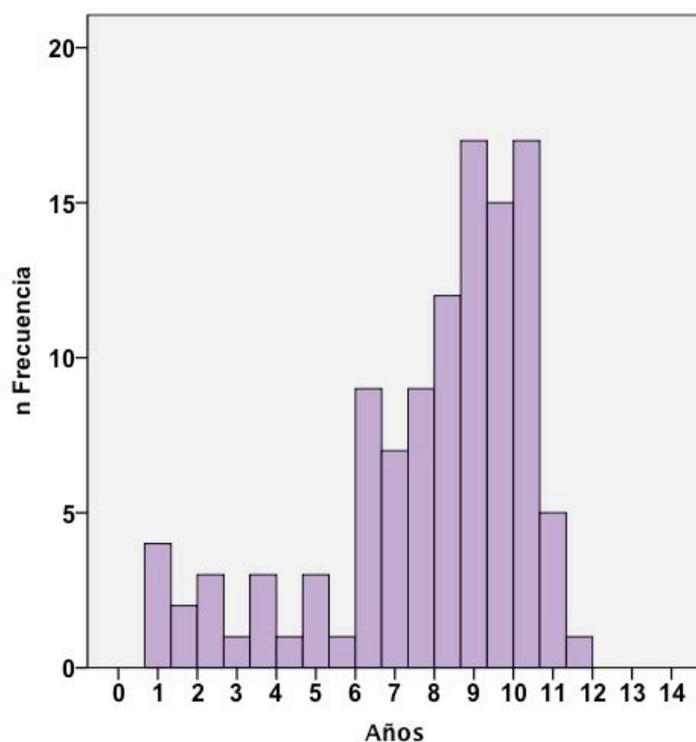


Figura 36. Histograma, representa la frecuencia de los eventos a lo largo del tiempo

En la **tabla 39**, se presentan los estadísticos descriptivos (media, desviación típica, mediana y p75-p25) según el fenotipo, para SG.

Tabla 39. Estadísticos descriptivos de los fenotipos tumorales para SG

Subtipos tumorales	n	Media	DE	Mediana	p75-p25
Luminal A	18	8,90	1,48	9,07	10,23-7,89
Luminal B	35	8,44	1,70	8,99	9,82-6,82
Luminal B HER2	22	8,48	2,32	9,09	10,00-7,98
HER2	13	7,61	3,47	8,66	10,39-4,26
TN	21	5,70	3,26	6,77	8,59-2,16

5.8.2. Factores pronósticos: Análisis univariante y multivariante

El análisis univariante de los factores pronósticos se muestra en el **Anexo 7**. La **Tabla 40** resume el análisis univariante de las variables que alcanzaron un nivel de significación de 0,25 o menor.

Tabla 40. Resultados del análisis univariante de los factores pronósticos variables que alcanzaron un nivel de significación de 0,25 o menor

Factores Pronósticos	p	HR	IC
Edad franjas			
- > 50 años	0,179	-	-
- 36-50 años	0,113	2,851	0,780-10,417
- < 35 años	0,702	0,842	0,350-2,029
Diámetro			
- < 2 cm	0,067	-	-
- 2-5 cm	0,045	2,593	1,020-6,596
- > 5 cm	0,083	2,726	0,877-8,475
Afectación ganglionar			
- N0	0,562	-	-
- N1	0,904	1,056	0,437-2,552
- N2	0,157	2,940	0,661-13,073
- N3	0,982	0,000	0,000-
Etapa (II frente III)	0,057	2,303	0,975-5,439
RE	0,004	3,478	1,503-8,047
RP	0,016	2,807	1,212-6,499
Ki-67	0,091	2,541	0,862-7,483
Grado nuclear pieza	0,009	4,345	1,451-13,011
Fenotipo			
- Luminal A	0,036	-	-
- Luminal B	0,353	2,766	0,323-23,677
- Luminal B HER2	0,267	3,463	0,387-30,989
- HER2	0,097	6,398	0,714-57,311-
- TN	0,024	10,839	1,369-85,824

Tabla 40. Resultados del análisis univariante de los factores pronósticos variables que alcanzaron un nivel de significación de 0,25 o menor (continúa)

	p	HR	IC (95%)
Anemia			
- Normal	0,251	-	-
- Grado 1	0,482	2,079	0,270-15,995
- Grado 2	0,287	3,072	0,389-24,248
- Grado 4	0,077	12,342	0,758-200,906
Fiebre Neutropénica	0,102	2,765	0,818-9,351
Respuesta Radiológica			
- Completa	0,097	-	-
- Parcial	0,063	4,011	0,927-17,364
- No respuesta	0,033	6,345	1,161-34,683
RCP	0,192	2,629	0,616-11,216
TRR			
- pCR	0,266	-	-
- SRR*	0,688	0,764	0,205-2,846
- WRR**	0,307	1,849	0,569-6,007
- Progresión	0,235	2,481	0,555-11,097
RCB			
- pCR	0,060	-	-
- I	0,386	2,720	0,283-26,147
- II	0,165	4,296	0,550-33,561
- III	0,030	10,139	1,246-82,484

*Strong response rate; ** Weak response rate

Tabla 40. Resultados del análisis univariante de los factores pronósticos variables que alcanzaron un nivel de significación de 0,25 o menor (continúa)

Factores Pronósticos	p	HR	IC
Miller primario			
- 1	0,381	-	-
- 2	0,155	2,969	0,664-13,286
- 3	0,589	1,403	0,410-4,794
- 4	0,325	1,854	0,542-6,335
- 5	0,529	0,580	0,106-3,166
Miller ganglio			
- Sin metástasis	0,082	-	-
- Metas sin cambios	0,689	0,725	0,151-3,492
- Metas y cambios	0,047	2,577	1,014-6,550
- Sin metas y cambios	0,562	0,538	0,066-4,372
pT			
- pT0	0,031	-	-
- pT1	0,968	1,024	0,326-3,216
- pT2	0,237	2,210	0,593-8,234
- pT3	0,014	8,596	1,551-47,632
pN			
- pN0	0,022	-	-
- pN1	0,717	1,206	0,437-3,327
- pN2	0,330	1,935	0,513-7,301
- PN3	0,003	6,270	1,863-21,100
Etapa (ypT ypN)			
- Etapa 0	0,124	-	-
- Etapa I	0,170	4,331	0,533-35,200
- Etapa II	0,224	3,671	0,452-29,848
- Etapa II	0,040	8,980	1,103-73,102

Tabla 40. Resultados del análisis univariante de los factores pronósticos variables que alcanzaron un nivel de significación de 0,25 o menor (continúa)

Factores Pronósticos	p	HR	IC
Radioterapia	0,007	3,429	1,402-8,372
Rotura capsular	0,098	2,121	0,871-5,164
Invasión vascular	0,077	2,448	0,907-6,608
Radioterapia	0,007	3,429	1,402-8,372
Hormonoterapia	0,001	4,064	1,787-9,241
Tipo Hormonoterapia			
- Inhibidor aromatasa	0,148	-	-
- TAM	0,972	0,975	0,244-3,906
- TAM y análogo	0,085	3,752	0,831-16,936

El análisis multivariante utilizando el modelo de selección automática de variables “hacia atrás condicional” se muestra en la **Tablas 41**. Se seleccionan 6 variables: edad, grado nuclear en la pieza, RCB, pT, pN, Ki-67.

Tabla 41. Resultados del análisis multivariante de los factores pronósticos utilizando el modelo de selección automática de variables “hacia atrás condicional”

Factores Pronósticos	p	HR	IC
Edad franjas			
- > 50 años	0,002	-	-
- 36-50 años	0,001	0,009	0,001-0,138
- < 35 años	0,000	0,005	0,000-0,090
Grado nuclear pieza	0,011	0,148	0,034-0,647
RCB			
- pCR, I	0,007	-	-
- II	0,004	13,092	2,300-74,512
- III	0,003	50,484	3,800-670,644
pT			
- pT0	0,001	-	-
- pT1	0,001	0,007	0,000-0,114
- pT2	0,004	0,013	0,001-0,254
- pT3	0,875	1,228	0,094-15,981
pN			
- pN0	0,010	-	-
- pN1	0,001	0,046	0,007-0,299
- pN2	0,080	0,156	0,019-1,252
- PN3	0,003	0,008	0,000-0,193
Ki-67	0,018	0,192	0,049-0,757

Resultados

A continuación se presentan las curvas de SG según la RCP, en la **figura 37** se reflejan los resultados, según el RCB 0 y en la **figura 38** según RCB 0 y I, es decir se incluyen las respuesta anatómo-patológicas “casi” completas), según RCB y según el fenotipo tumoral.

Posteriormente, se muestran otras curvas de SG seleccionadas por su importancia clínica: según RCB (**Figura 39**), fenotipo (**Figura 40**), edad (**Figura 41**), grado nuclear en la pieza quirúrgica (**Figura 42**), RE (**Figura 43**) y HER2 (**Figura 44**).

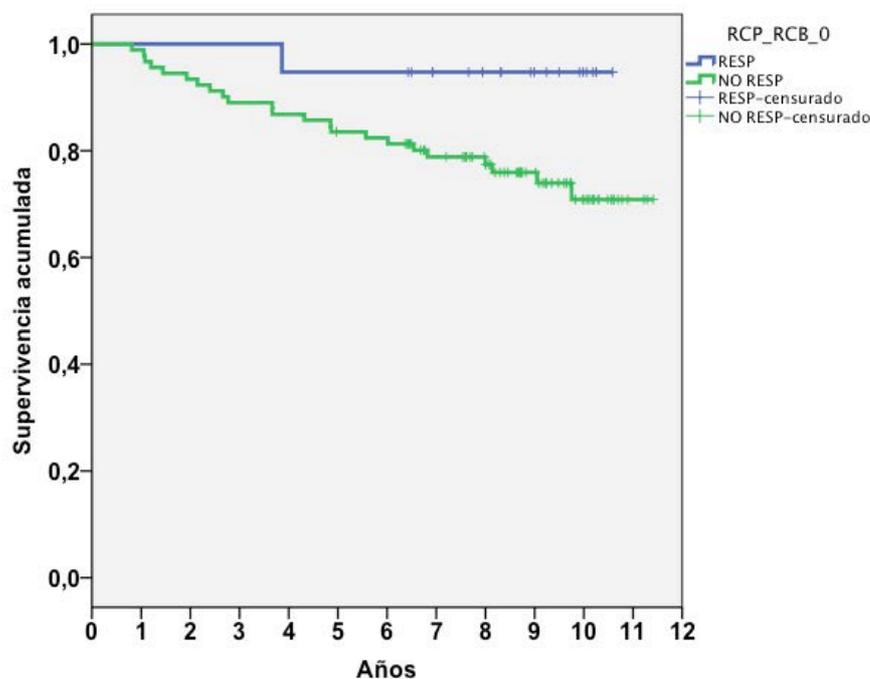


Figura 37. SG según RCP (RCB 0) (p 0,069)

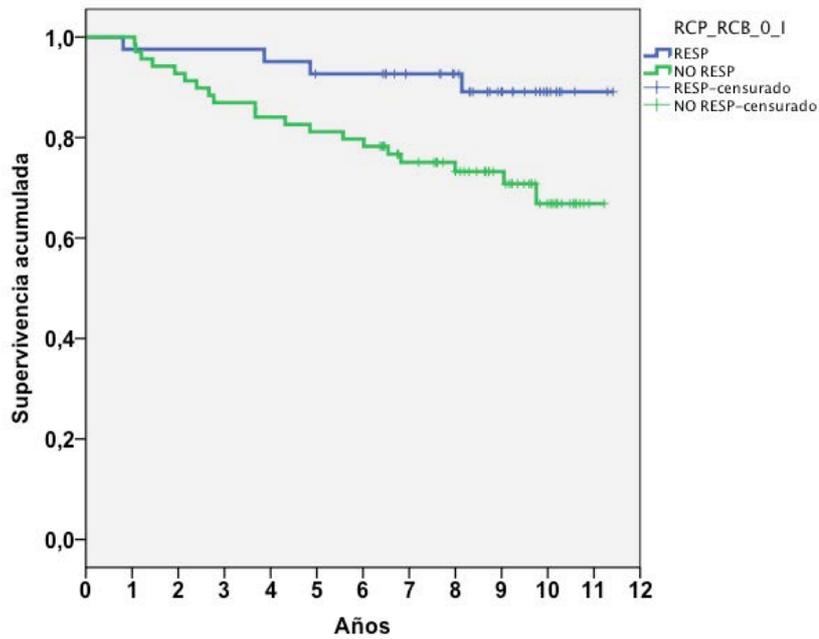


Figura 38. SG según respuestas anatómo-patológicas RCB 0 - RCB I (p 0,024)

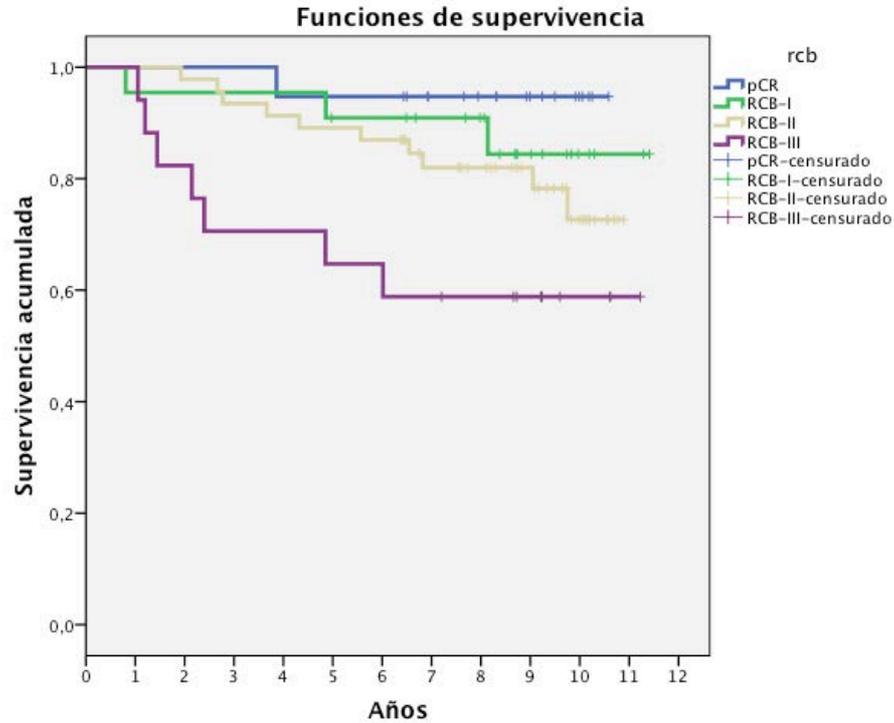


Figura 39. SG según RCB (p 0,030)

Resultados

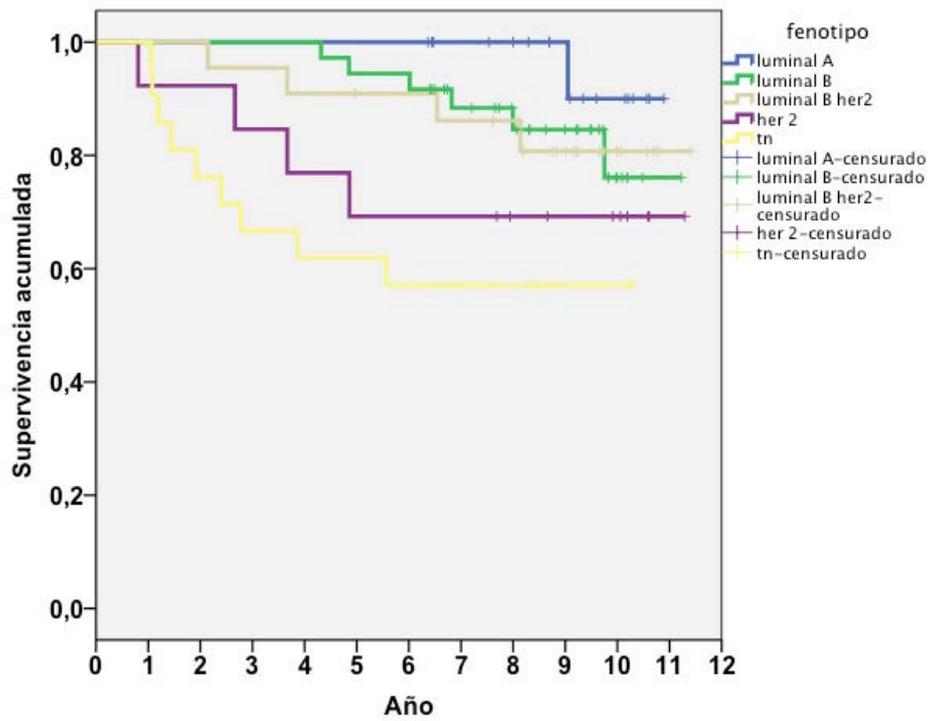


Figura 40. SG según fenotipo (p 0,006)

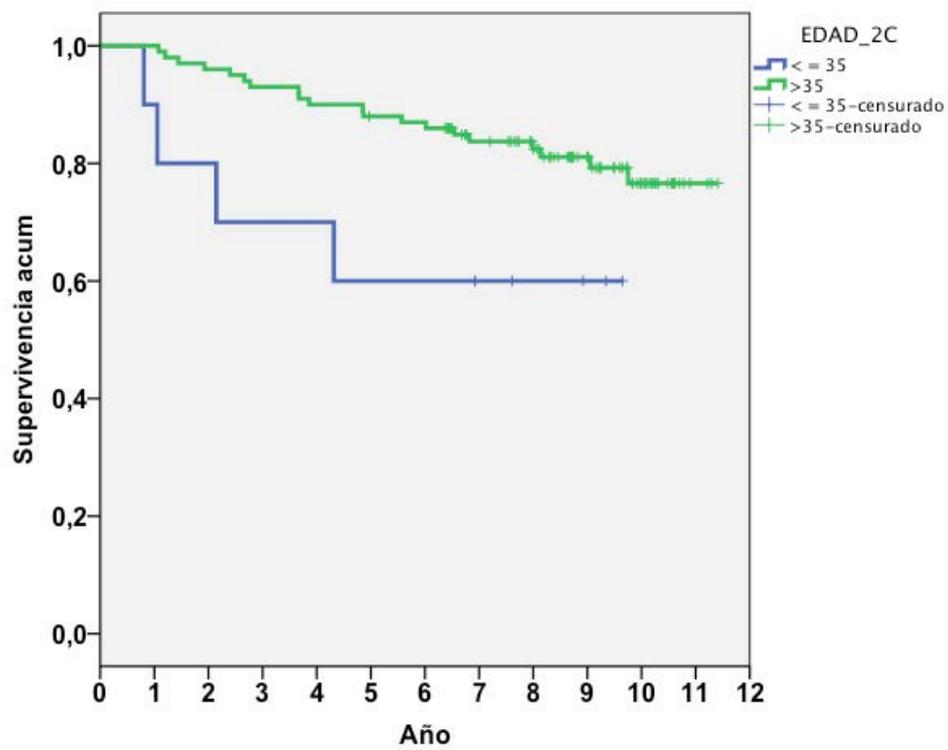


Figura 41. SG y edad (p 0,045)

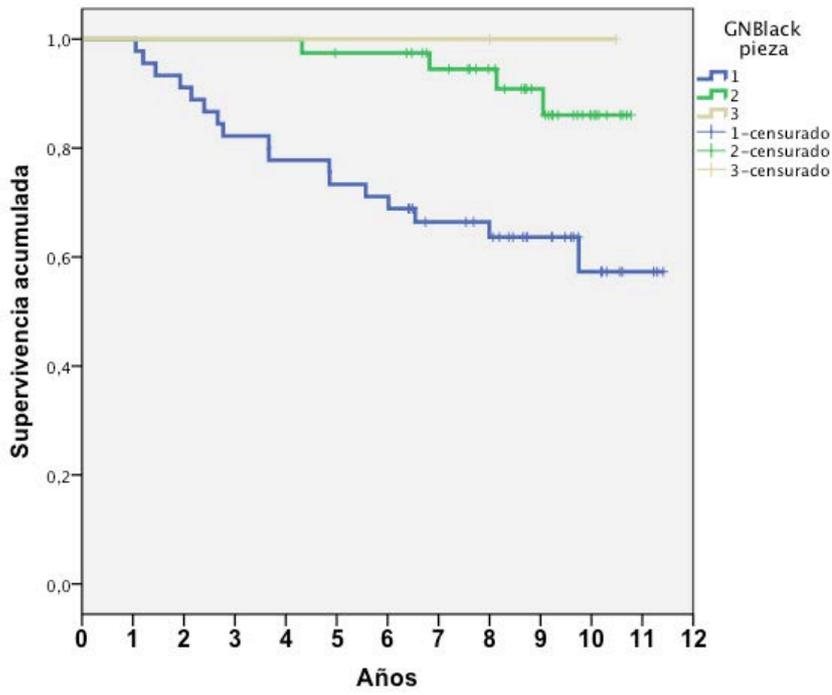


Figura 42. SG y grado nuclear en pieza (p 0,008)

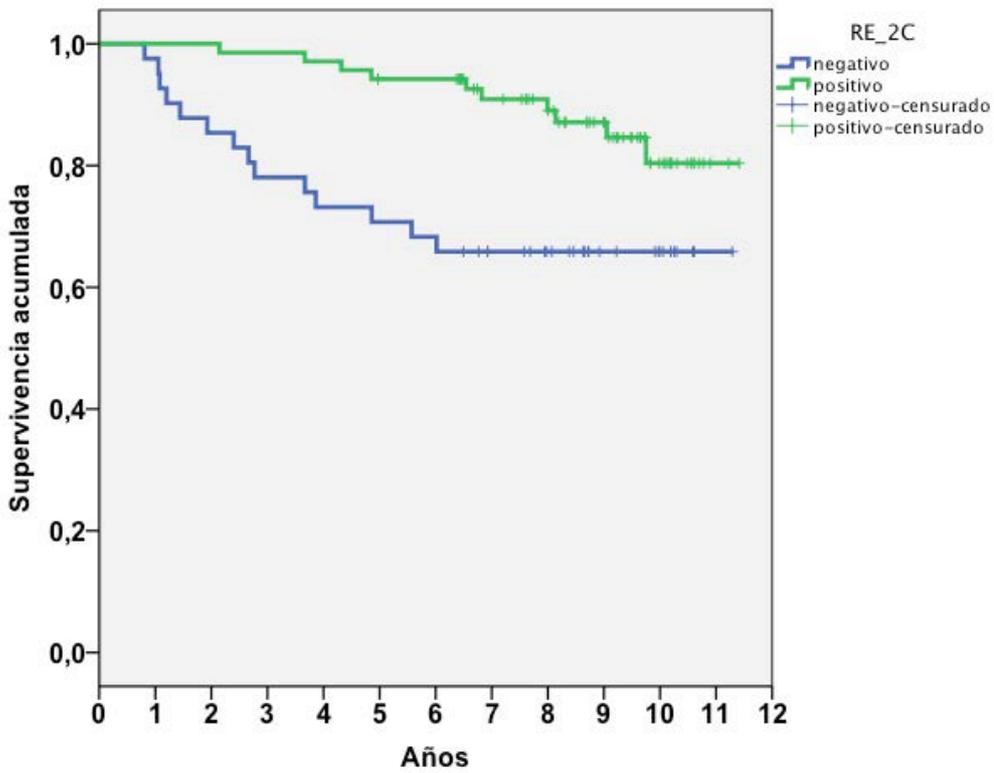


Figura 43. SG y RE (p 0,006)

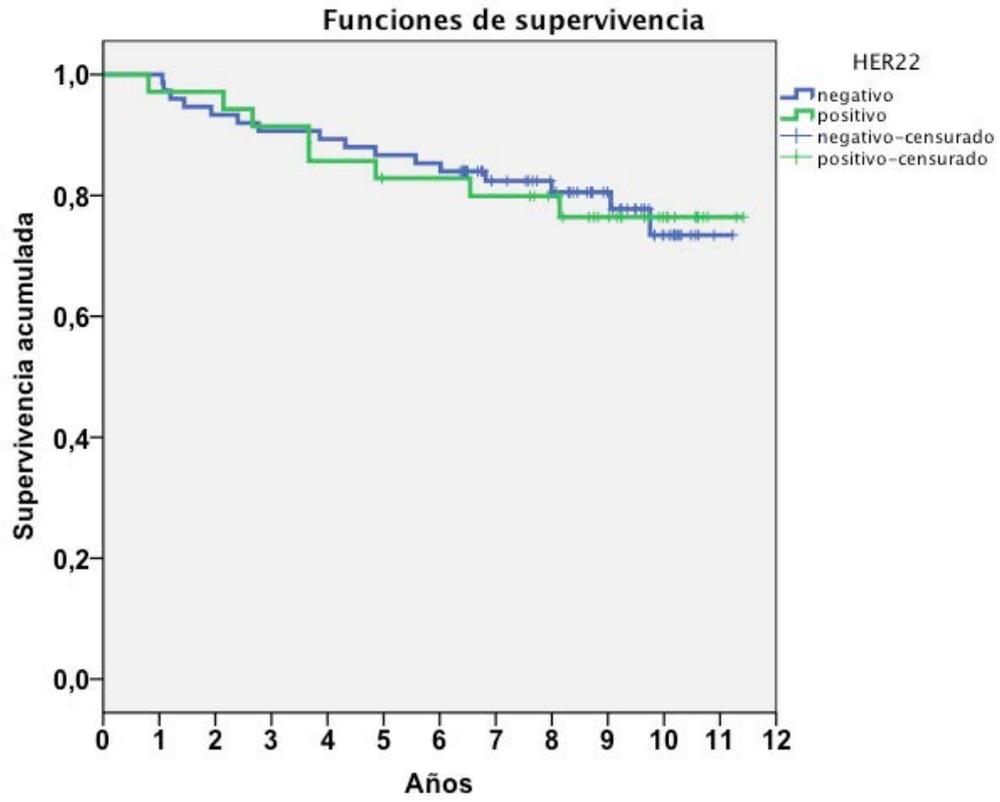


Figura 44. SG y HER2 (p 0,941)

5.8.3. Comparación de los sistemas de evaluación de respuesta anatómopatológica

Se efectúa un análisis comparativo de los diferentes sistemas de evaluación de respuesta anatómopatológica y su capacidad pronóstica a largo plazo mediante curvas ROC (**Figura 45**). La **tabla 42** detalla los resultados de cada uno de los sistemas y su AUC (*Area Under Curve*). No se alcanzan diferencias significativas, aunque el AUC del RCB es la más alta (AUC: 0,680).

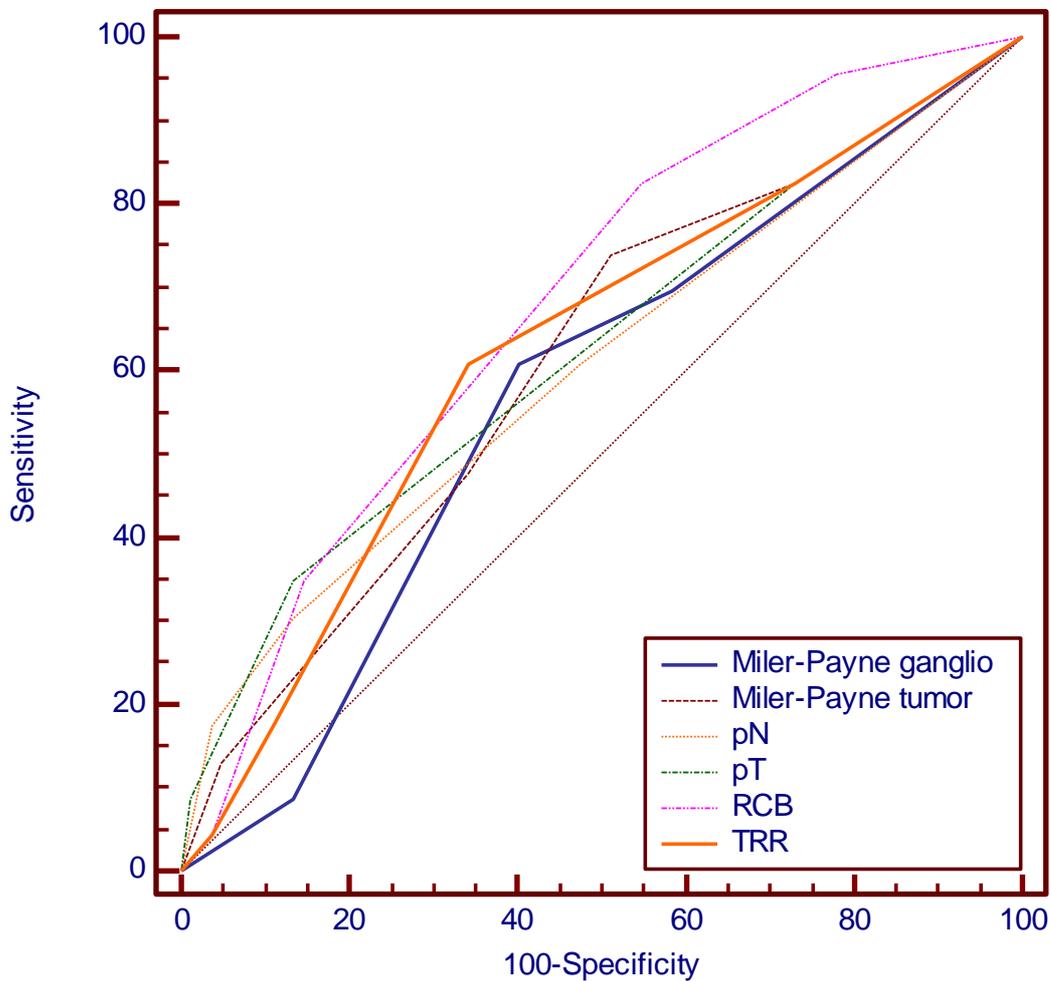


Figura 45. Curvas ROC para los diferentes sistemas de evaluación de respuesta anatómopatológica

Tabla 42. Sistemas de evaluación de respuesta y sus correspondientes AUC

Sistemas de evaluación de Respuesta anatómico-patológica	AUC
Miller tumor	0,613
Miller ganglio	0,570
RCB	0,680
pT	0,623
pN	0,604
TRR	0,624

5.9. Análisis específico de la población triple negativa

Aunque el número de pacientes TN incluidas no es muy elevado (n=21), el tratamiento que reciben es homogéneo, incluye un platino, y un seguimiento prolongado, por lo que los resultados obtenidos, a pesar de no ser decisivos son informativos.

5.9.1. Características de las pacientes y de los tumores

De los 110 tumores analizados, 21 cumplen los criterios de tumores “triples negativos” por falta de expresión del RE, RP y de la proteína HER2.

a) Características epidemiológicas

La edad media de las pacientes con tumores TN es de 52,48 años (límites 31-75 años) y el 52,4% son premenopáusicas. 2 pacientes (3 tumores) presentan mutación en BRCA-1 en línea germinal. El resto de datos epidemiológicos de la población TN se resume y se compara con el resto de fenotipos de la serie en la **tabla 43**.

b) Presentación clínica

El 47,6% (n=10) de las pacientes consultan por tumoración palpable, el 28,6% (n=6) debutan con síntomas inflamatorios (mastitis o mastalgia) o con telorrea y el 23,8% (n=5) se diagnostican en el programa de cribado (6 mujeres excluidas del programa, por edad).

La mediana de diámetro tumoral al diagnóstico es de 34 mm (límites 22-75 mm) (**Tabla 44**). Desde el punto de vista radiológico y concretamente en la IRM (n=17), el 82,4% de los tumores (n=14) se presentan como masa unifocal y el resto como masa irregular y/o difusa. Todos ellos presentan una curva de

captación de contraste tipo 3 y tres muestran captación en anillo con necrosis central.

Tabla 43. Características epidemiológicas de los tumores TN y del resto fenotipos

Características epidemiológicas	TN N= 21		Resto fenotipos N= 89	
	n	%	n	%
Mutación BRCA1	3	14,3	0	0
Menopausia				
- No	11	52,4	58	65,2
- Sí	10	47,6	31	34,8
Paridad				
- Nuligesta	4	19	14	15,7
- 1-2 hijos	9	42,9	51	57,3
- > 2 hijos	7	33,3	23	25,8
- Desconocido	1	4,8	1	1,1
Lactancia				
- No	4	19	19	21,3
- 1-4 meses	6	28,6	15	16,9
- > 4 meses	3	14,3	9	10,1
- Desconocido	8	38,1	46	51,7
Anovulatorios				
- No	10	47,6	30	33,7
- Sí	5	23,8	24	27
- Desconocido	6	28,6	35	39,3
THS				
- No	15	71,4	73	82
- Sí	1	4,8	4	4,5
- Desconocido	5	23,8	12	13,5
IMC				
- Normal	8	38,1	27	30,3
- Sobrepeso	5	23,8	42	47,2
- Obesidad	8	38,1	20	22,5

c) Características anatómo-patológicas

El 95,2% de los tumores son ductales y uno de ellos es un tumor metaplásico con diferenciación condroide (**Figura 46**). El 57,1% es de alto grado. El índice proliferativo (Ki-67) es mayor del 20% en el 95,2% (mediana de 60%, límites 10-100%) y por encima del 40%, en el 71,4%. La **tabla 44** resume las características de las pacientes y de los tumores TN que se contrastan con el resto de fenotipos.

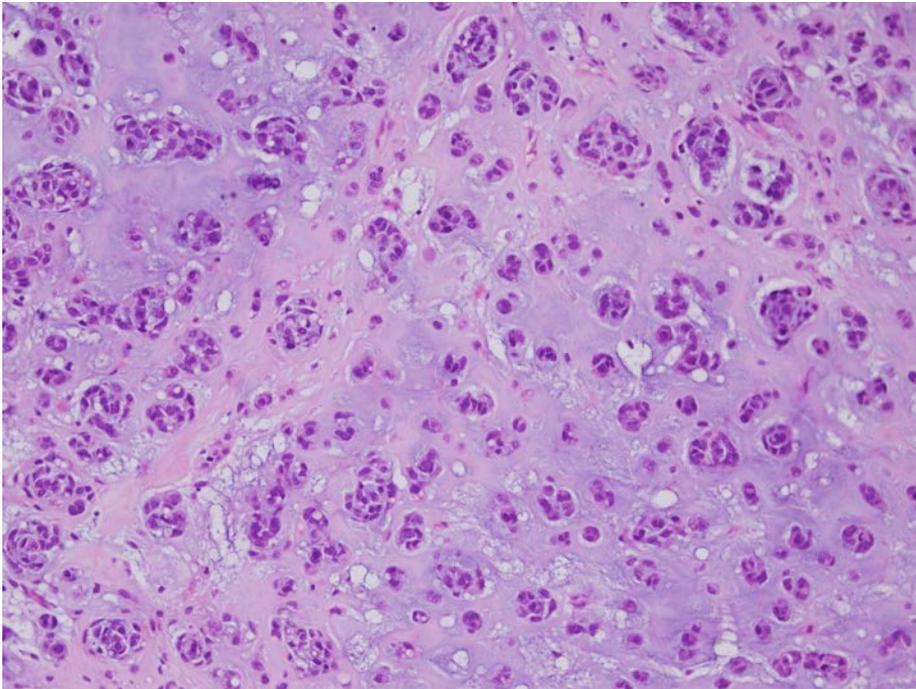


Figura 46. Tumor metaplásico con diferenciación condroide

Tabla 44. Características de las pacientes y de los tumores TN

	Triples Negativos		NO Triples Negativo	
N	21 (19,1%)		89 (80,9%)	
Edad, años (media, límites)	52,48 (31-75)		50,63 (28-78)	
Diámetro tumoral, mm (mediana, límites)	35 (22-75)		35 (12-90)	
	n	%	n	%
Menopausia				
- No	11	52,4	58	65,2
- Sí	10	47,6	31	34,8
Histología				
- Ductal	20	95,2	70	78,7
- Lobulillar	0	0	11	12,4
- Metaplásico	1	4,8	0	0
- Otros	0	0	8	9,0
Diámetro tumoral (T)				
- Tx	0	0	1	1,1
- T1	0	0	2	2,2
- T2	14	66,7	60	67,4
- T3	3	14,3	18	20,2
- T4	4	19	8	9
Afectación ganglionar				
- N0	13	61,9	51	57,3
- N1	7	33,3	34	38,2
- N2/N3	1	4,8	4	4,5
Grado Nuclear de Black biopsia				
- GN1	12	57,1	21	23,6
- GN2	8	38,1	53	59,6
- GN3	0	0	9	10,1
- desconocido	1	4,8	6	6,7
Ki-67				
- <20%	1	4,8	33	37,1
- ≥20%	20	95,2	54	60,7
- <40%	6	28	-	-
- ≥40%	15	71,4	-	-
- desconocido	0	0	2	2,2

5.9.2. Tratamientos aplicados

a) Toxicidades y cumplimiento

Las toxicidades son semejantes a las descritas en la población general (**apartado 5.2.**) y no hay diferencias en tolerabilidad ni en el cumplimiento si nos ceñimos al subgrupo TN.

b) Tratamiento local

Se realizan 12 cirugías conservadoras (57,1%) y 8 mastectomías (38,1%). Todas ellas con linfadenectomía axilar electiva. En 4 pacientes se realiza reconstrucción mamaria (en dos de ellas diferida). El 81% de las pacientes (n=17) reciben radioterapia postoperatoria.

5.9.3. Respuestas

a) Respuestas clínica y radiológica

Las respuestas obtenidas se resumen en la **tabla 45**.

Tabla 45. Respuesta clínica y radiológica de los tumores TN

Respuesta	Progr.		E.Estable		R. Parcial		R.Comple	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Clínica (n= 21)	1	4,8	5	23,8	5	23,8	10	47,6
Radiológica según RECIST								
- Mamo/eco (n=21)	1	4,8	4	19	7	33,3	9	42,9
- IRM (n= 13)	0	0	1	7,7	4	30,8	8	61,5

b) Respuesta anatómo-patológica

La tasa de RCP (ypT0/Tis ypN0) es del 28,6% (6 tumores). Las respuestas evaluadas por el sistema propuesto por Symanns *et al.*¹⁰¹ se describe en la **tabla 26** y se compara con el resto de fenotipos.

c) Factores predictores de RCP en la población triple negativa

Con sólo 21 pacientes, se realiza un análisis exploratorio de las principales variables clínicas como posibles factores predictores de RCP. Entre ellos, destaca la edad, ya que en las pacientes menores de 35 años es más probable alcanzar RCP (p 0,058). En el resto de variables, no se alcanzan diferencias destacables.

De la misma forma se analizan las principales variables histológicas incluyendo el panel de proteínas que posteriormente ayudará a la clasificación de los tumores TN. La **figura 47** refleja la tasa de RCP obtenidas en función de la expresión de las diferentes proteínas.

Hay dos variables capaces de predecir la RCP en CMTN con significación estadística: CTLA-4, midiendo su expresión en linfocitos (p 0,001) y el LPBC determinado en la biopsia preoperatoria (p 0,018). Otro factor que predice la RCP es el índice proliferativo. Los tumores con índice proliferativo superior o igual al 40% ($n=15$) tienen más probabilidad de alcanzar una RCP ($n=6$) con tendencia a la significación estadística (p 0,067).

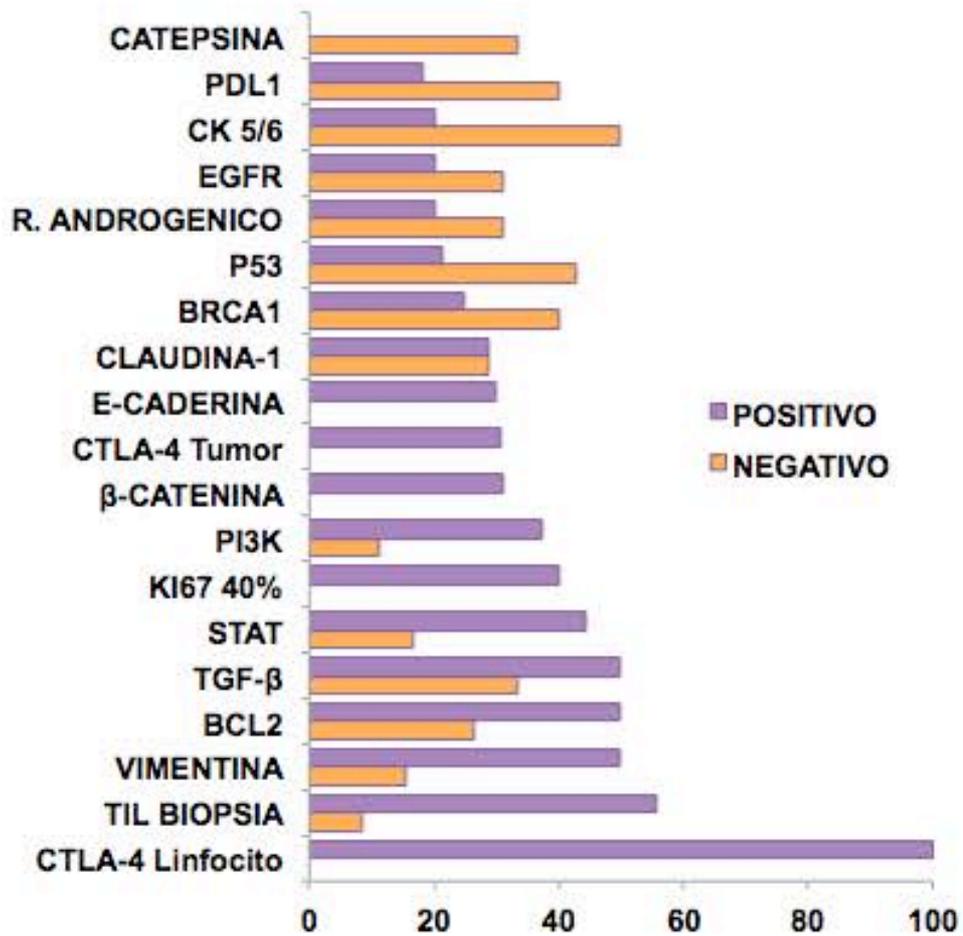


Figura 47. RCP en CMTN en función la expresión proteica y otras características histológicas

5.9.4. Supervivencia

a) Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global

La mediana de seguimiento para SLE es de 6,76 años (límites 0,5-10,30). De todas las pacientes TN, 10 (47,6%) recaen de forma sistémica, 2 de ellas con recaída local simultánea. La mediana de seguimiento para SG es de 6,76 años (límites 1,05-10,30). En el momento del análisis el 57,1% de las pacientes siguen vivas.

La **figura 48**, muestra un histograma en función de los diferentes fenotipos y supervivencia. El subgrupo triple negativo tiene el peor pronóstico con un pico de recaídas y fallecimientos en los tres primeros años. En la **figura 49** se representa la curva SG.

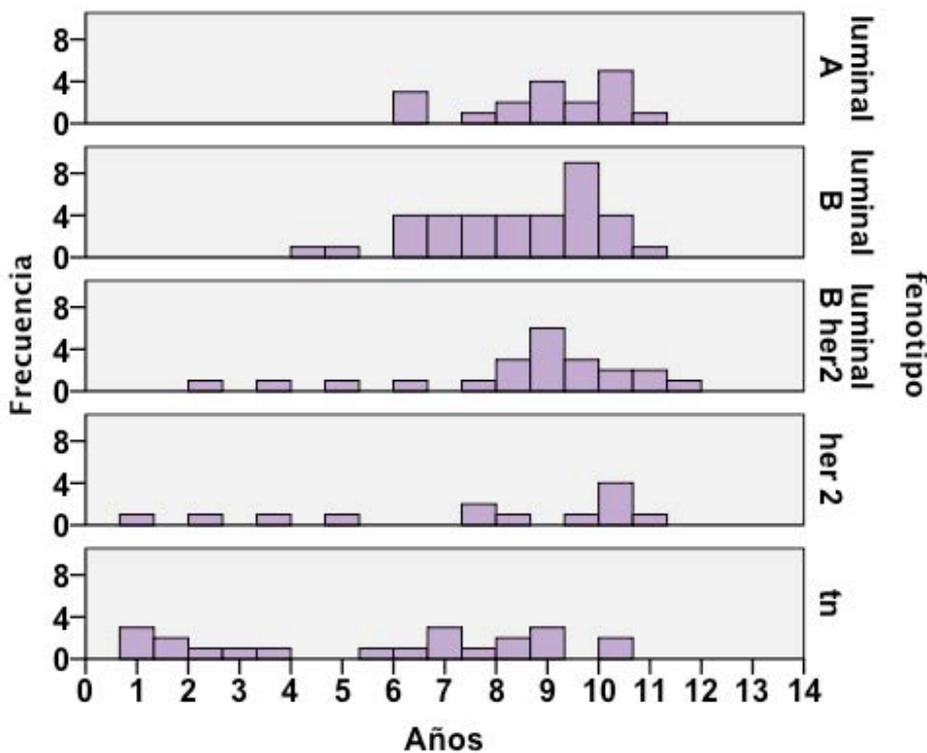


Figura 48. Histograma en función de los fenotipos y la supervivencia

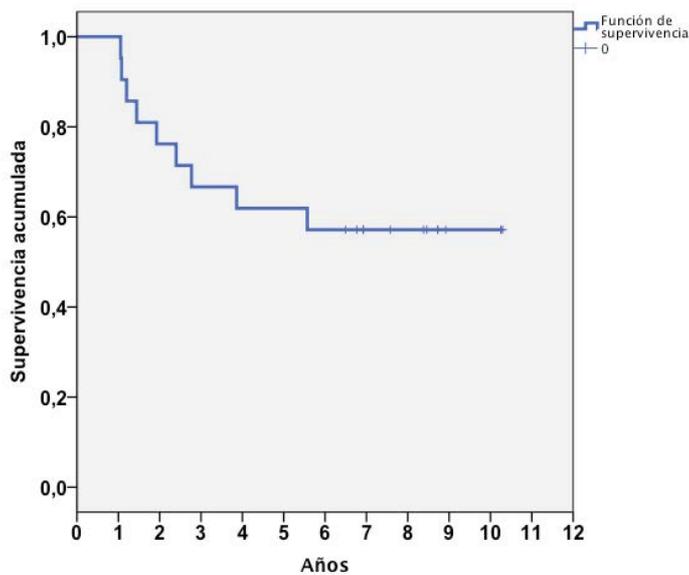


Figura 49. Curva de SG en CMTN

b) Factores pronósticos

Alguno de los factores pronósticos clínicos y anatómo-patológicos analizados son los siguientes: edad (p 0,133); grado nuclear en la pieza (p 0,095); pT (p 0,055); pN (0,001); RCP (0,127) y RCB (p 0,019). Se muestran a continuación las curvas de SG en función del RCB en la población TN (**figura 50**).

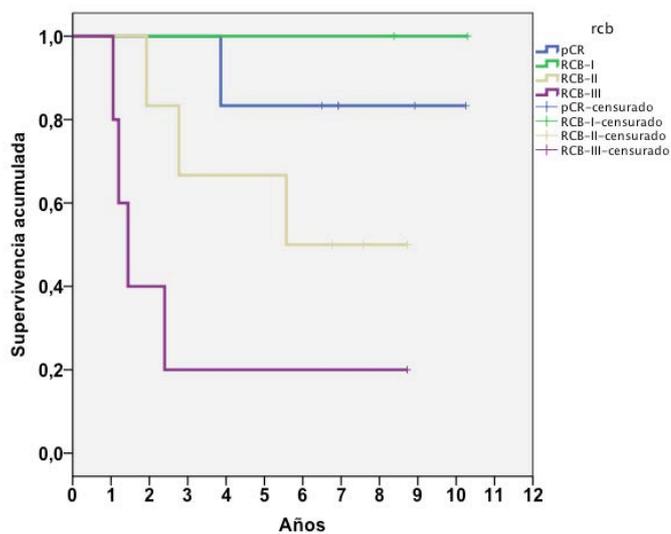


Figura 50. Curva de SG en función de RCB en CMTN

Además, se realiza un análisis exploratorio acerca del papel pronóstico de la batería de proteínas seleccionadas, se resume gráficamente en la **figura 51**. CTLA-4 en linfocitos (p 0,042) y p53 (p 0,061) se postulan como factores pronósticos en CMTN.

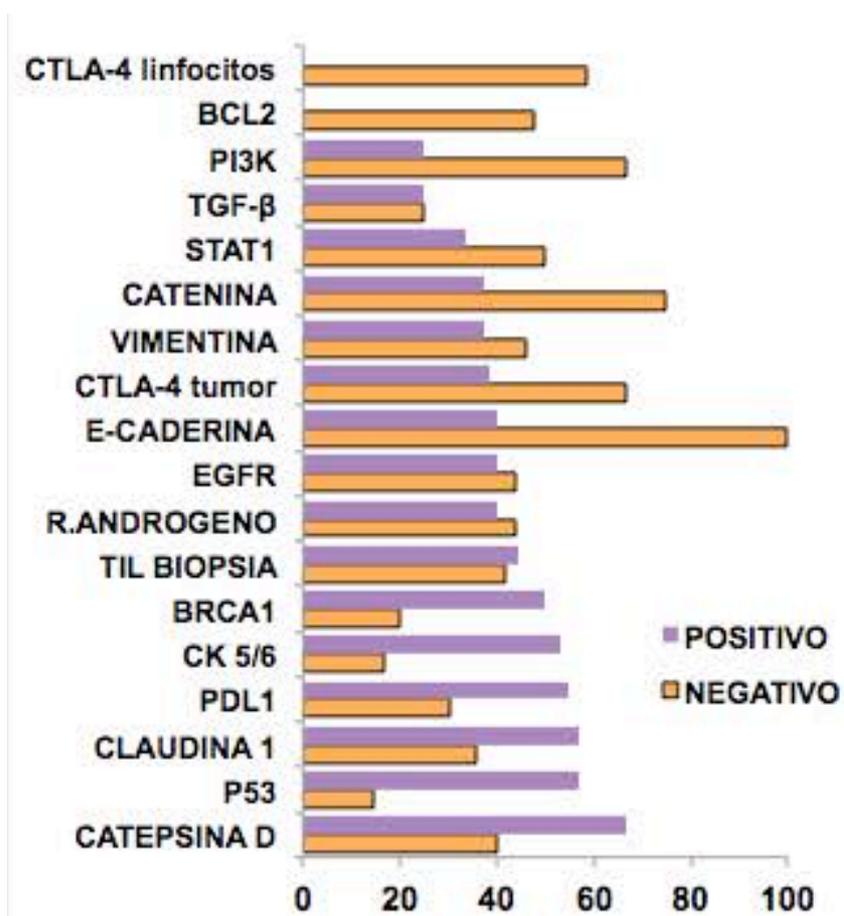


Figura 51. Exitus en función de la expresión proteica y TIL

5.9.5. Clasificación de los tumores triples negativos

Teniendo en cuenta el algoritmo secuencial expuesto en la metodología, se identifican tres tumores claramente clasificables que se definen de tipo mesenquimal (M) por la histología (n=1), un tumor metaplásico con diferenciación condroide) y como basal like-1 (BL1) por ser pacientes con mutación BRCA germinal (n=2).

Posteriormente (2º paso) se identifica el subgrupo LAR, en función de la sobre-expresión del RA (4 tumores).

En un tercer paso, otros 10 tumores son incluidos en el subgrupo basal en función de la expresión de CK5/6, EGFR, Claudina-1, p53 y BRCA-1 (somático). Con la expresión fundamentalmente de PDL1 y CTLA-4 (además de CTLA-4 y STAT1) se objetivan claramente 2 subgrupos con diferente pronóstico que se clasifican como tumores inmunoactivos (BLIA) (n=4+2) e inmunosuprimidos (BLIS) (n=4).

Por último, Vimentina, junto con TGF β -1, "low Claudin-1" y β -Catenina, clasifican los 3 últimos tumores (n=3+1). 2 de ellos son tumores son muy indiferenciados con negatividad para prácticamente todas las tinciones, quedan también enmarcados en el subgrupo mesenquimal.

Una vez caracterizados los diferentes tipos de tumores triples negativos, se analizan las RCP en cada uno de los subgrupos: BLIA 4 (66,7%); BLIS 1 (14,3%); LAR 1 (20%) y mesenquimal 0 (0%).

La **figura 52** y la **figura 53** muestran las respuestas en función del RCB y la SG, respectivamente.

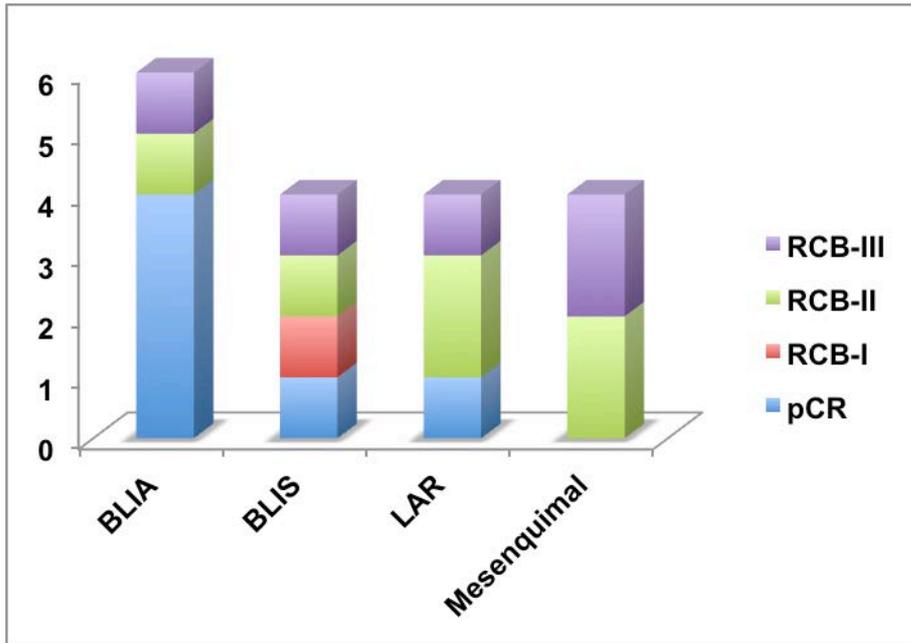


Figura 52. Respuesta anato-patológica en función del RCB de los fenotipos TN

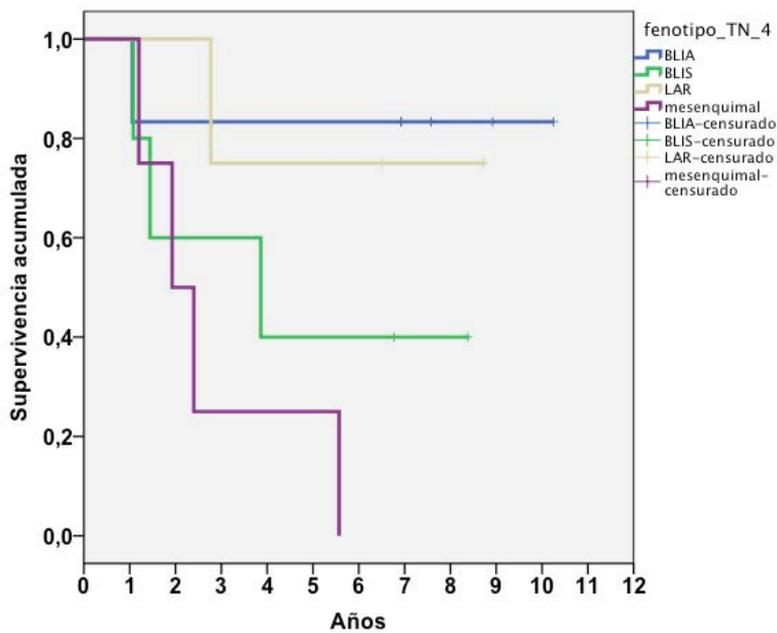


Figura 53. SG en función de los fenotipos TN

5.10. Análisis específico de los TIL

5.10.1. Descripción de los TIL en la serie

De los 110 tumores de la serie, se analiza el infiltrado linfocitario tumoral (TIL) de 104 tumores, ya que en el resto no se pudo conseguir la muestra histológica. Ejemplos de infiltración linfocitaria de las biopsias de los tumores analizados se muestran en la **figura 54**.

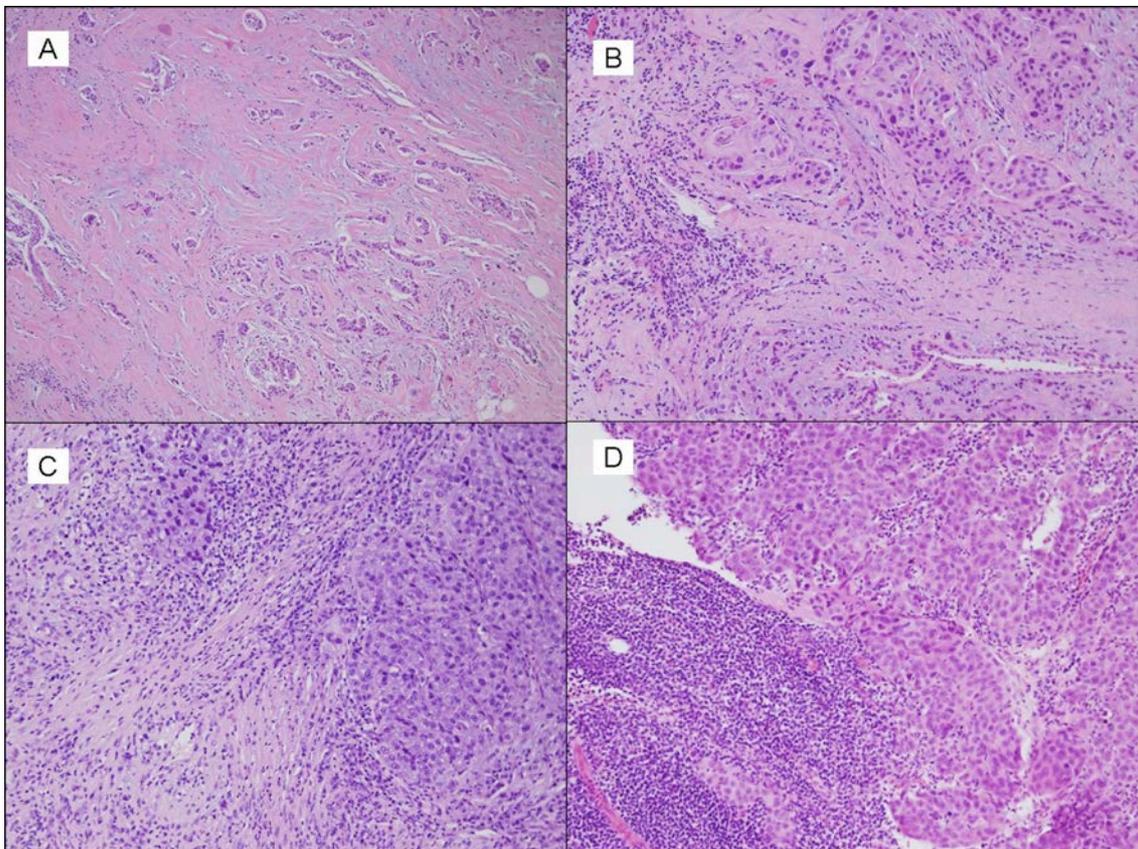


Figura 54. TILs: A: Sin infiltrado linfocitario; B y C: situaciones intermedias; D: Predominio linfocitario (LPBC)

En la **tabla 46**, se reflejan las características de las pacientes según presenten o no, LPBC (predominio linfocítico).

Tabla 46. Características clínicas y anatomo-patológicas según LPBC

Características clínicas y anatomo-patológicas	Global		LPBC		No LPBC	
	n	%	n	%	n	%
Pacientes	110	100	79	75,96	25	24,04
Edad, mediana años	48		51		48	
Etapa						
- II	86	78,2	17	68	67	84,8
- III	24	21,8	8	32	12	15,2
Histología						
- Ductal	85	77,3	20	80	60	75,9
- Lobulillar	11	10	-	-	10	12,7
- Otras	14	12,7	5	20	9	11,4
Grado Nuclear de Black biopsia						
- GN1	33	30	16	64	17	21,5
- GN2	70	63,7	9	36	52	65,8
- GN3	7	6,4	-	-	9	11,4
Inmunohistoquímica						
- RE+	69	62,7	10	40	54	68,4
- RP+	65	59,1	11	44	49	62
- HER2+	37	33,6	7	28	28	35,4
Ki-67						
- < 20%	34	30,9	3	12	27	34,2
- ≥ 20%	74	67,3	22	88	51	64,6

De los 104 tumores en los que se analiza el infiltrado linfocitario, se identifican 25 tumores (24,03%) con LPBC, cuya distribución por fenotipos se muestra en la **tabla 47**. Los fenotipos TN y HER2 presentan LPBC en un 42,9% y un 30,8%

respectivamente, a diferencia de los tumores luminales A en los que sólo el 5,6% de ellos exhiben LPBC.

Tabla 47. Distribución LPBC en biopsia según fenotipos

Fenotipo	Con LPBC		Sin LPBC		Desconocido	
	N	%	n	%	n	%
Luminal A	1	5,6	15	83,3	2	11,1
Luminal B	8	22,2	26	72,2	2	5,6
Luminal B HER2	3	13,6	18	81,8	1	4,5
HER2	4	30,8	8	61,5	1	7,7
TN	9	42,9	12	57,1	0	0

También se valora el infiltrado linfocitario de la pieza quirúrgica, bien en el residuo tumoral o si existe respuesta completa anatómo-patológica, en el lecho tumoral (**Tabla 48**).

Tabla 48. Distribución LPBC en pieza quirúrgica (post-QT) según fenotipos

Fenotipo	Con LPBC		Sin LPBC		Desconocido	
	N	%	n	%	n	%
Luminal A	0	0	15	83,3	3	16,7
Luminal B	1	2,8	32	88,9	3	8,3
Luminal B HER2	5	22,7	17	77,3	0	0
HER2	5	38,5	7	53,8	1	7,7
TN	3	14,3	16	76,2	2	9,5

5.10.2. TIL y respuesta completa anatómo-patológica

En la siguiente tabla (**Tabla 49**) de contingencia se analizan las repuestas anatómo-patológicas, independientemente del fenotipo, según el LPBC ($p < 0,001$). Las RCP en los tumores LPBC son del 40% frente al 10% de RCP en los tumores que no tienen un infiltrado linfocitario extenso.

Tabla 49. Análisis de las respuestas anatómo-patológicas según LPBC

		RCP		Total
		Sí	No	
LPBC	No	8 (10,1%)	71 (89,9%)	79 (100%)
	Sí	10 (40,0%)	15 (60,0%)	25 (100%)
Total		18 (17,3%)	86 (82,7%)	104 (100%)

De las 18 pacientes (17,3%) que alcanzan RCP, se detallan las diferencias encontradas LPBC y según fenotipos en la **tabla 50** y en la **Figura 55**. No se muestran los resultados de los tumores que no alcanzan RCP. Los tumores TN y luminales con LPBC alcanzan un 55,6% y 37,5% de RCP, respectivamente.

Por otra parte, se estudia el papel que juegan los TILs, no sólo en las RCP sino también en las “casi” completas (RCB I). Un 68% de los tumores con LPBC o no tienen células viables o sólo residuo microscópico. El 55,5% de los tumores TN y el 87,5% de los tumores luminales B cumplen la condición RCB 0/I y LPBC. Se resumen en la **tabla 51** y se representa en la **figura 56**.

Tabla 50. Tumores que alcanzan RCP: análisis según LPBC

Fenotipo	RCP global		RCP según LPBC			
	n	%	LPBC		No LPBC	
			n	(%)	n	(%)
Luminal A	0	0	0	0	0	0
Luminal B	8	23,5	3	37,5	5	19,2
Luminal B HER2	1	4,8	1	33,3	0	0
HER2	3	25	2	25	1	25
TN	6	28,6	5	55,6	1	8,3
Total	18	17,3	10	40	8	10,1

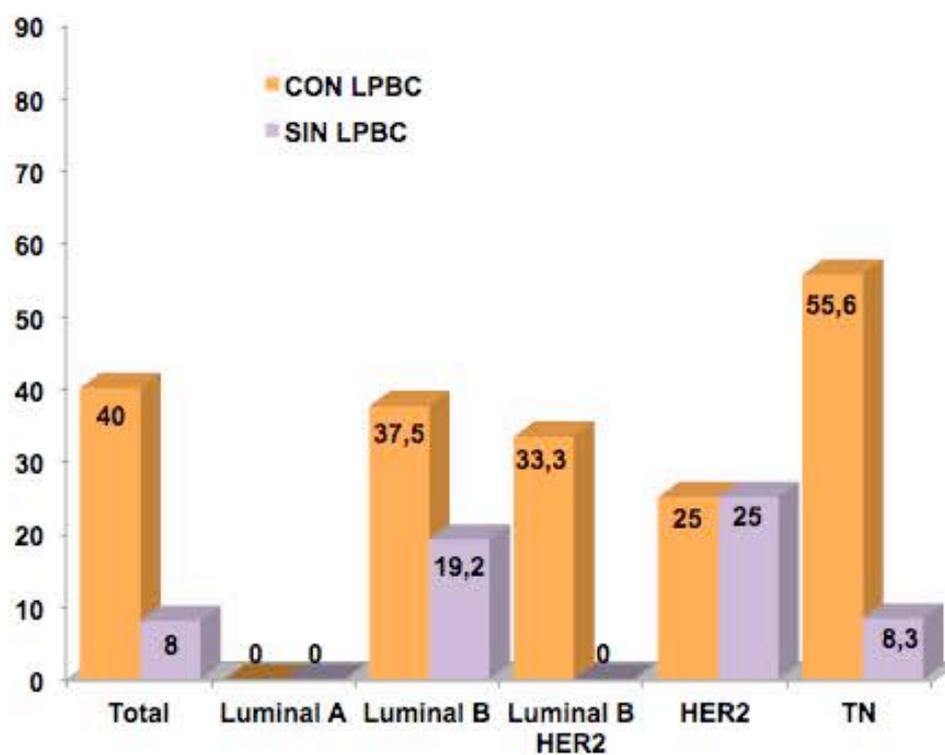


Figura 55. Representación gráfica de las RCP (RCB 0) según LPBC

Tabla 51. Tumores que alcanzan RCB 0 y RCB I: análisis según LPBC

Fenotipo	RCB 0 y I global		RCB 0 y I según LPBC			
	n	%	LPBC		No LPBC	
			n	(%)	N	(%)
Luminal A	2	12,5	0	0	2	13,5
Luminal B	14	41,2	7	87,5	7	26,9
Luminal B HER2	7	33,3	2	66,7	5	27,8
HER2	8	66,7	3	75	5	62,5
TN	8	38,1	5	55,6	3	25
Total	39	37,5	17	68	22	27,8

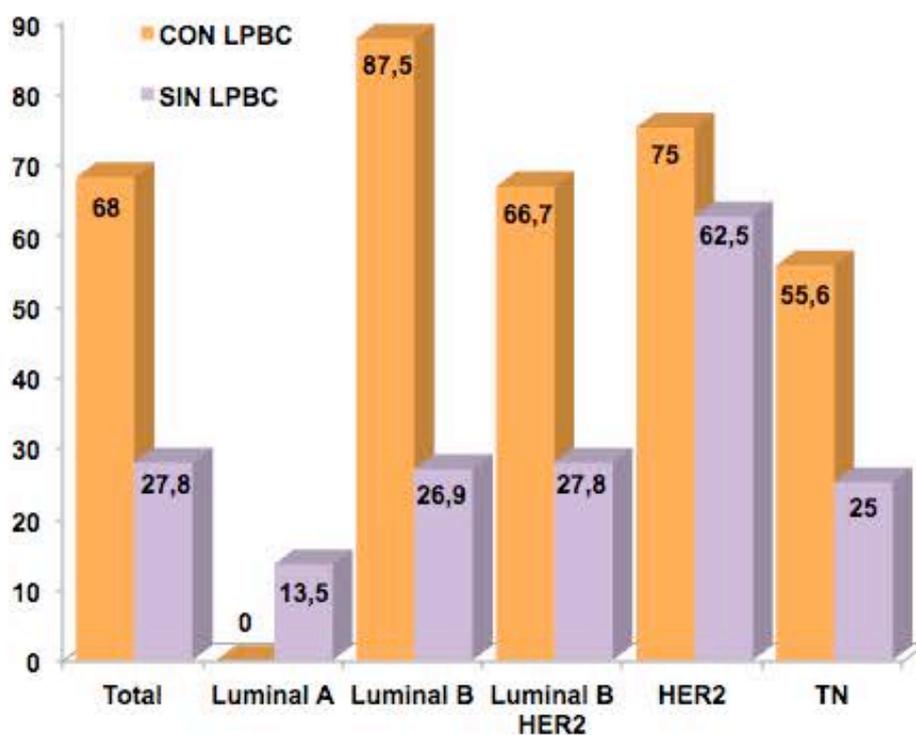


Figura 56. Representación gráfica de las RCP (RCB 0) y las "casi completas" (RCB I) según LPBC

5.10.3. TIL y supervivencia

La presencia de LPBC tanto en la biopsia como en la pieza no influye en la SG. (Figura 57). Además se realiza un análisis del papel del “viraje” del TIL (pre y post-QT) en la SG, sin encontrarse diferencias significativas (datos no mostrados).

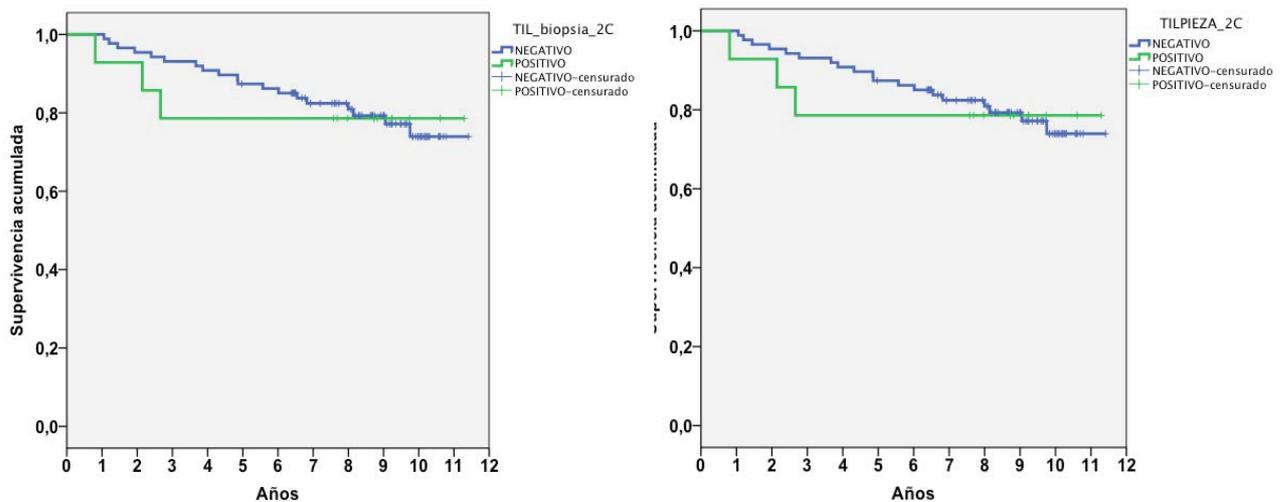


Figura 57. SG en función de la presencia de LPBC en biopsia (izquierda) o pieza (derecha)

Cuando se excluyen los tumores que alcanzan RCP, la presencia de LPBC en el residuo tumoral tampoco influye en la SG. Aún así, se realiza un análisis exploratorio según RCB (I-III) y según fenotipos. La presencia de infiltrado inflamatorio es factor pronóstico en los tumores con alta carga tumoral residual (RCB III) y con fenotipo luminal B, sin alcanzar diferencias significativas.

5.10.4. Análisis de TIL en la población triple negativa

Como ya se ha comentado previamente, el 42,9% (n=9) de los TN presenta LPBC en la biopsia diagnóstica y un 14,3% (n=3) en la pieza quirúrgica. Cuando un CMTN alcanza RCP, en un 55,6% de los casos (n=5) tienen LPBC y cuando a este análisis, se añaden los tumores que alcanzan “casi RCP” (RCB=1) la cifra de población LPBC no se modifica.

En la **Figura 58** se muestra la curva de SG de la población TN en función de la presencia de TIL en el residuo tumoral.

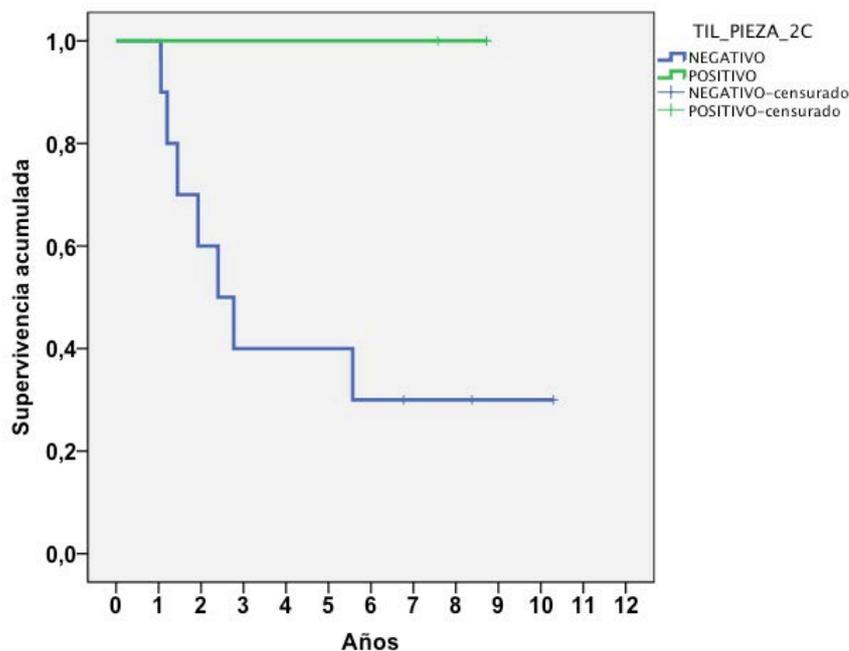


Figura 58. SG en la población TN en función de la presencia de LPBC en pieza quirúrgica (p 0,071)

Discusión y comentarios

6. Discusión y comentarios

6.1. Características de las pacientes y de los tumores

El CM es un tumor que se relaciona con la edad: 1 de cada 15 mujeres de más de 70 años desarrollará un CM frente a 1 de cada 203 en menores de 39 años⁶. En cambio, cuando las pacientes son diagnosticadas de CM y requieren tratamiento preoperatorio, no es infrecuente que la edad de las pacientes se encuentre alrededor de los 50 años (**Tabla 21**). De las pacientes de nuestra serie, casi tres cuartas partes están en la horquilla de 41 a 60 años, y casi la mitad tienen edades comprendidas entre los 41 y 50 años (**Figura 11**).

La gran mayoría de factores que se consideran de riesgo para el desarrollo del CM, se relacionan con la exposición estrogénica a lo largo de la vida. Se describen factores etiológicos como la menarquia precoz, la menopausia tardía, la paridad, la lactancia, la THS, la obesidad y la ingesta enólica. Además se recogen comorbilidades como la hipertensión, diabetes e hipercolesterolemia. Se detallan de forma pormenorizada en las **tablas 17 y 18**. La historia de CM en la familia incrementa el riesgo, de hecho la presencia de un familiar de primer grado duplica el riesgo¹⁴⁹. En nuestra serie, hasta un 42% de las pacientes incluidas, tienen al menos, un familiar con CM.

En la ronda 9ª del programa de cribado en Cantabria (años 2013-2014) el 78% de los casos diagnosticados (n= 186) fueron tumores in situ (Tis) o carcinomas infiltrantes iguales o menores de 2 cm (T1) (datos no publicados). En la 8ª ronda del programa (años 2011-2012), se describen un 21,7% de Tis y entre los tumores infiltrantes, un 36,57% de tumores T1a/T1b y un 44,57% de T1c (<http://www.saludcantabria.es/index.php?page=PCancerDeMama>). En cambio, es propio en los estudios de neoadyuvancia, que las pacientes sean incluidas si sus tumores miden más de 2 cm de diámetro, y esta es la principal razón, por

la que las pacientes provenientes del programa de cribado, en nuestra serie sea sólo del 12,7%.

De hecho, en los primeros trabajos de tratamiento preoperatorio se incluían exclusivamente pacientes con tumores localmente avanzados. Posteriormente, la terapia preoperatoria se ha focalizado en tumores resecables pero que cumplían al menos un criterio para recibir QT, por ejemplo el diámetro superior a 2 cm. En este sentido, la mayoría de pacientes incluidas en este estudio son etapas II al diagnóstico (77,4%), mientras que las etapas III constituyen el 21,8%.

La mayoría de los tumores tienen histología ductal (77,3%), un índice proliferativo de más del 20% (67,3%) y un grado nuclear desdiferenciado (GN 1-2: 85,5%). Estas características son semejantes a otras series que incluyen pacientes diagnosticadas de CM que no se seleccionan por fenotipo tumoral, como por ejemplo la reflejada en la **tabla 52**, que resulta del análisis de 6377 pacientes con indicación de QTNA⁸⁷. En ella se incluyen pacientes con CM de varios estudios con QTNA, siendo en su mayoría tumores ductales, T2 y desdiferenciados; también, más de un 60% son hormonosensibles y un 30% sobreexpresan HER2, al igual que nuestra serie. La única diferencia es que hay casi un 10% más de pacientes con afectación ganglionar.

La sobreexpresión de la proteína HER2 es alta 31,8% (fundamentalmente a expensas de tumores luminales B HER2) frente a lo comunicado en otros trabajos, si bien es cierto que esta sobreestimación puede deberse a la selección de tumores HER2 para recibir tratamiento neoadyuvante.

Por lo tanto, las características de nuestras enfermas no difieren de las señaladas por otros autores y nuestras observaciones podrán contextualizarse con las suyas.

Tabla 52. Características de los tumores en comparación con otra serie.

Características histológicas	Nuestra serie		Von Minckwitz ⁸⁷	
	n= 110		n= 6377	
	n	%	n	%
Edad, años (media, límites)	50,98		50,1	
Mediana Diámetro, mm	35		40	
Histología				
- Ductal	85	77,3	4972	80,1
- Lobulillar	11	10	844	13,6
- Otras	14	12,7	389	6,3
GN de Black biopsia				
- GN1	33	30	2380	40,1
- GN2	61	55,5	3318	56
- GN3	9	8,2	231	3,9
- Desconocido	7	6,4	448	7
Inmunohistoquímica				
- RE+	69	62,7	3771	62,4
- RP+	65	59,1	3235	53,7
- HER2+	37	33,6	1327	30,3
Diámetro tumoral (T)				
- T1	2	1,8	216	3,4
- T2	74	67,3	4277	67,8
- T3	21	19,1	1060	16,8
- T4	12	10,9	759	12,1
Afectación ganglionar				
- N0	64	58,2	2681	48
- N1/N2/N3	46	41,8	2908	52
- Desconocido	0	0	65	10

6.2. Quimioterapia

La mayoría de nuestras enfermas recibió 4 ciclos de carboplatino y doxorubicina y a continuación otros 4 ciclos de docetaxel. Este esquema **provoca** toxicidad fundamentalmente hematológica, que no difiere de la comunicada por otros autores que emplean esquemas semejantes¹⁵⁰. En la **tabla 53** se resumen las toxicidades registradas por un esquema de QT solo con antraciclinas y taxanos⁶⁶, por dos esquemas que incorporaban carboplatino (ambos junto con factor estimulante de granulocitos profiláctico)^{84,151} y por otro donde carboplatino y paclitaxel fueron seguidos de FEC seguido de una QT tipo FEC¹⁵². Por lo tanto, la adición de carboplatino condiciona un incremento de las toxicidades hematológicas.

Tabla 53. Comparación de las toxicidades descritas con diferentes regímenes de quimioterapia

Toxicidades hematológicas	Aberdeen ⁶⁶ (%)	CALGB 40603 ⁸⁴ (%)	GEPAR SIXTO ¹⁵¹ (%)	Tamura ¹⁵² (%)	Nuestra Serie (%)
Leucopenia	48	13	-	-	-
Neutropenia	60	27	65	58	30
Plaquetopenia	0,5	3	14	1,1	3,5
Anemia	0	2	15	15,9	1,8
Fiebre neutropénica	-	9	8	2,3	7,3

Wildiers *et al.*¹⁵³, al revisar 4 ensayos clínicos de QT adyuvante, detectan que la administración temprana del docetaxel permite alcanzar la intensidad de dosis (ID) prevista para este fármaco. Otros estudios no aleatorizados verifican que si la adyuvancia empieza con antraciclinas, la ID del FEC es del 91% frente a solo el 76% del taxano. En cambio, si la secuencia es inversa, la ID del

docetaxel llega al 100% de la teórica. Por lo tanto, retrasar el docetaxel comprometería su ID y empeoraría la toxicidad.

En Japón, evalúan esta cuestión en 2 estudios de QT neoadyuvante: JBRCRG 01¹⁵⁴ y 03¹⁵⁵. En el primero, la secuencia es antraciclina y luego el taxano, y en el segundo se invierte. Su conclusión va en el mismo sentido: sin perder actividad, anticipar el docetaxel disminuye la toxicidad. En el mismo contexto, aparece más recientemente el estudio Neo-tAnGo¹⁵⁶. Con un diseño factorial 2x2, examina si añadir gemcitabina (y al mismo tiempo si aplicar una secuencia taxano → antraciclinas) incrementarían las RCP. La primera hipótesis no se cumple, en cambio la segunda sí.

Considerando todos los estudios mencionados, sugieren que la administración del taxano primero y a continuación la antraciclina sería preferible, lo cual por otra parte está en consonancia con el modelo teórico de Norton-Simon¹⁵⁷.

Por otra parte, en algunas de nuestras pacientes el taxano fue paclitaxel, el cual resultó mejor tolerado y precisó menos ajustes y retrasos. Curiosamente, además, con él se insinúa una mejor evolución (ver más adelante), lo que puede explicarse por su empleo en densidad de dosis. Dos artículos recientes, el metanálisis del grupo alemán⁹⁵ y la meta-regresión de Berruti *et al.*¹⁵⁸., refuerzan esta idea. El primero incluye 3.332 mujeres reclutadas para 7 ensayos de QT neoadyuvante y arroja que, al mirar el impacto de la dosis y duración del tratamiento en la respuesta del CM triple negativo, resulta más importante la dosis acumulada de antraciclinas que el número de ciclos. El otro trabajo revisa 29 estudios con 14.641 mujeres y constata que la intensidad/densidad de dosis condiciona la supervivencia a largo plazo.

La trascendencia de la noción de densidad de dosis se acepta desde que en 2005 se publica el estudio **GEPARDUO**¹⁵⁹. Se incluyen 913 pacientes con CM invasivo T2-3, N0-2, M0 y reciben 4 ciclos preoperatorios con antraciclinas y taxanos concomitantes en esquema bisemanal y con soporte con G-CSF, o

bien un esquema secuencial NSABP-B27 “like”. La mediana del diámetro tumoral era de 4 cm y todas las mujeres recibían tamoxifeno concomitante. Las RCP en el tumor primario/axila sin considerar el componente in situ fueron: en el esquema secuencial: 22,4% en el tumor primario y 14,1% en la axila; en el esquema con densidad de dosis: 11,5% en el tumor primario y 7,1% en la axila. Además, el esquema secuencial permitió más cirugías conservadoras.

Otro estudio que evalúa el papel de las dosis densas en neoadyuvancia es el comunicado por Untch *et al.* Se incluyen 631 pacientes que se randomizan a un esquema con dosis densas secuencial con epirrubicina seguido de paclitaxel, o el mismo esquema en combinación cada 3 semanas. Las cirugías conservadoras (66% frente 55%) y la tasa de RCP (18% frente 10%) son superiores en el brazo de densidad de dosis¹⁶⁰.

Atendiendo a los resultados obtenidos en CM avanzado¹⁶¹ y adyuvancia¹⁶², la administración semanal de paclitaxel supera en términos de actividad al esquema trisemanal. Por esta razón Green *et al.*¹⁶³, diseñan un ensayo fase III que pretende confirmar esta cuestión. 258 pacientes con cáncer de mama T1-3, N0-1, M0 son aleatorizadas a recibir 12 dosis con paclitaxel semanal o 4 dosis de paclitaxel en régimen trisemanal, en ambos casos seguidas por 4 ciclos de FAC. El esquema semanal consigue más RCP (28% frente 16%, p 0,02) pero a costa de más neurotoxicidad.

Por lo tanto, otra forma de mejorar tolerabilidad de este régimen es la incorporación de paclitaxel semanal en lugar de docetaxel trisemanal.

6.3. Respuestas clínicas y radiológicas

El examen físico y la imagen radiológica constituyen la primera aproximación a la respuesta tumoral conseguida con el tratamiento preoperatorio, antes de la planificación quirúrgica.

En nuestra serie la IRM objetiva una tasa de RCR del 34,2%, superior a la que se describe a nivel patológico (ver más adelante). De las 37 pacientes evaluadas exclusivamente por mamografía (mamas de contenido graso), consiguen una RCR un 13,5%.

En la mayoría de las ocasiones, existe una correlación de la respuesta radiológica con la anatomo-patológica, pero a veces, una respuesta completa radiológica (RCR), puede mostrar residuo tumoral microscópico en la pieza quirúrgica; y una masa palpable residual traduce exclusivamente fibrosis¹⁶⁴. Por estas razones, la evaluación radiológica del residuo tumoral tras QTNA tiene que ser lo más precisa posible, no sólo para planificar la cirugía sino que también por las implicaciones pronósticas que conlleva.

La IRM proporciona según las series publicadas una correlación con el residuo patológico superior a la ecografía y mamografía^{12,165,166}. De hecho, es capaz de discernir entre fibrosis secundaria al tratamiento y tumor viable residual, y esta precisión depende de los diferentes fenotipos, siendo la correlación muy alta, fundamentalmente, en los subtipos TN y HER2¹⁶⁷. La correlación radiológica y anatomo-patológica se detallará en el **apartado 6.5.2**.

6.4. Cirugía

Los factores que influyen en el procedimiento quirúrgico tras QTNA son varios: preferencia de la paciente, relación diámetro tumoral con el mamario, fenotipo tumoral y la respuesta al tratamiento preoperatorio. Pero además, en la decisión quirúrgica también influyen tanto la apariencia tumoral en la imagen basal como en la prueba radiológica tras la QT. Así, factores como la multifocalidad influyen en la indicación de mastectomía independientemente de la respuesta alcanzada. Por otra parte, en ocasiones se producen respuestas parcheadas (y no concéntricas) que instan a diseñar la cirugía según el diámetro original, independientemente de la respuesta alcanzada.

Desde la implantación de la QTNA -no sólo en tumores localmente avanzados-, la tasa de cirugías conservadoras ha sido uno de los objetivos prioritarios en prácticamente todos los ensayos clínicos. La **Tabla 54**, muestra la tasa de cirugías conservadoras de nuestra serie y se ponen en contexto con alguno de los estudios en neoadyuvancia más relevantes.

Tabla 54. Tasa de cirugía conservadora en estudios con QTNA

Estudio	Régimen utilizado	Cirugías Conservadoras (%)
NSABP B-18	AC	68
NSABP B-27	AC → Doc	75
CALGB 40603	Paclitaxel sem → AC dosis densas	50
Nuestra serie	Carbo-ADR → Doc	60

En las últimas décadas se ha producido una verdadera revolución del tratamiento quirúrgico de la mama, de mastectomías a tumorectomías y de linfadenectomías a biopsias del ganglio centinela. Más recientemente, la incorporación de técnicas oncoplásticas permite que en algunos casos (mamas

pequeñas por ejemplo) en los que la cirugía conservadora pudiera ser factible, se prefiera la mastectomía con reconstrucción inmediata, ya que el resultado cosmético final para la mujer es mejor¹⁶⁸. Esta es una de las razones, independientemente del diámetro tumoral, por la que en estudios recientes la tasa de cirugías conservadoras es, paradójicamente, menor. Con el advenimiento de las nuevas técnicas rectoras, la tasa de tumorectomías ya no es un indicador “fiel” de la actividad de un régimen neoadyuvante y de hecho ya no suele ser objetivo primario de los ensayos clínicos, puesto que ha sido desplazado por las RCP.

En los años en que se llevó a cabo el estudio, la técnica del ganglio centinela, hoy práctica rutinaria, no estaba instaurada y prácticamente la totalidad de las pacientes (97,2%) fueron tratadas con linfadenectomía.

6.5. Respuesta anatómo-patológica

Las respuestas anatómo-patológicas a la QTNA incluyen un abanico de alteraciones morfológicas en el tumor mamario y en los ganglios axilares que van desde la desaparición completa del componente infiltrante, a la respuesta parcial, la estabilización o la progresión tumoral durante el tratamiento. La RCP se ha asociado con mejores resultados a largo plazo, pero ésta es variable y depende de factores como la histología o el fenotipo, entre otros. Por otra parte, la persistencia de tumor en los ganglios axilares, a pesar de una respuesta completa nivel mamario, confiere peor pronóstico⁸⁸.

A la hora de realizar una comparación de las RCP obtenidas en nuestra serie y estos resultados contextualizarlos con lo ya publicado, es interesante definir los parámetros de evaluación para que las comparaciones realizadas sean informativas.

Primero, cómo se define la RCP. Desde que la QTNA es una opción terapéutica son muchas las definiciones de RCP que se han utilizado, siendo algunas más estrictas que otras: así hay autores que sólo evalúan la RCP en el tumor primario sin considerar el efecto conseguido a nivel ganglionar (ypT0/is). En el estudio NSABP B18 fue el primero que consideró esta definición, y estudios más recientes como el NeoALTTO⁷⁷, la siguen utilizando como objetivo primario. Hoy en día, lo más aceptado es considerar RCP como la conseguida tanto a nivel mamario como a nivel axilar, con o sin componente in situ.

- En nuestra serie se ha considerado como RCP la que considera la ausencia de tumor infiltrante en mama y axila y permite el CIS (ypT0/is ypN0), que equivale al RCB 0). Es una de las más recomendadas a nivel internacional¹⁶⁹.

- La definición más exigente es la del grupo alemán en la que no permite la presencia de tumores in situ. De hecho, cuando se analizan conjuntamente 7 de sus estudios randomizados en neoadyuvancia, con 6377 pacientes analizadas, evidencian cómo la presencia in situ condiciona más recaídas, sin que aparentemente tenga repercusión en supervivencia⁸⁷.
- Cortazar *et al.*⁸⁸ publican un metanálisis con 12 estudios en neoadyuvancia con 11955 pacientes con CM (CTNeoBC) y, contrariamente al grupo alemán, no objetivan diferencias en SLE ni SG cuando se compara la presencia o no de in situ. Por otra parte, cuando las RCP alcanzadas en mama y axila se comparan con las alcanzadas exclusivamente en la mama las diferencias en términos de SLE y SG son claras, a favor de las primeras. Además, la tasa de RCP comunicadas disminuye según la definición sea más exigente:
 - RCP solo en tumor mamario: 22% (ypT0/is);
 - RCP en mama y axila con CIS: 18% (ypT0/is ypN0); y
 - RCP en mama y axila sin CIS: 13% (ypT0 ypN0).

Segundo, el mejor sistema de evaluación de respuesta tras QTNA no está definido. Son muchos los descritos y de nuevo, el criterio de evaluación es heterogéneo. Algunos de los sistemas de evaluación se basan en el diámetro tumoral residual, sin considerar si la respuesta es parcheada o concéntrica. Ejemplos de estos sistemas son el ypTNM (sólo analiza la pieza tras QTNA)⁹⁸, y TRR⁹⁹ (éste sólo considera la respuesta mamaria y en cambio no la ganglionar). Otros, en cambio evalúan la celularidad antes y después de la QT: el más reconocido es el de Miller y Payne¹⁰⁰, pero otros sistemas como el de Sataloff¹⁷⁰ o Chevallier¹⁰³ son más antiguos y tienen menor vigencia. El RCB considera la carga tumoral residual en la pieza quirúrgica¹⁰¹.

La **tabla 55** refleja algunos estudios en neoadyuvancia, sin selección de tumores por fenotipos y las RCP conseguidas, especificando el sistema de evaluación de cada uno de los estudios. Si la definición de RCP es muy

exigente, más difícil es alcanzar RCP llamativas.

Tabla 55. Estudios en neoadyuvancia y RCP

Estudio ⁸⁷	Sistema de Evaluación de Respuesta	RCP
NSABP B-18 ⁶⁷	ypT0/is	9%
NSABP B-27 ⁶⁸	ypT0/is	25,6%
Aberdeen ⁵⁵	Miller y Payne	31%
CTNeoBC ⁸⁸	ypT0/is	22%
	ypT0/is ypN0	18%
	ypT0 ypN0	13%
Grupo Alemán ⁸⁷	ypT0 ypN0	15%
Nuestra serie	ypT0/is ypN0	17,3%

Por otra parte, en el año 2015 se publican las recomendaciones para homogeneizar los informes patológicos tras QTNA, tanto en la descripción macroscópica de la pieza, como en la evaluación de la respuesta, definen el RCB como el sistema recomendado, al menos en ensayos clínicos⁹⁶.

En nuestra serie se obtienen un 17,3% de RCP, en concordancia con los datos publicados en otras series. En nuestra experiencia, es un sistema que requiere entrenamiento, fundamentalmente con el cálculo en porcentaje de la densidad celular tanto en el componente in situ como en el infiltrante, pero una vez adquirido es reproducible y no muy laborioso.

Y tercero, en qué población tumoral se realiza el estudio, ya que las RCP alcanzada en los diferentes subtipos son muy variables, como se detallará a en el **apartado 6.5.1**.

Por otra parte, merece la pena analizar por qué en nuestra serie se produce un

“downstaging” en el tumor mamario pero no en la axila. Históricamente, los estudios comparativos de QTNA frente a QT adyuvante estudiaban 3 aspectos: la tasa de RCP, la tasa de cirugías conservadoras y por último las “conversiones” a nivel axilar, es decir cuántas pacientes con afectación ganglionar al diagnóstico (N1) no la tenían tras el tratamiento preoperatorio (pN0). La siguiente tabla (**Tabla 56**) muestra los resultados de esta última cuestión en los primeros estudios.

Tabla 56. Evaluación del “downstaging” ganglionar en los estudios con QTNA “clásicos”

Estudio	Régimen utilizado	↑ N0
NSABP B-18⁵⁶	AC	16%
NSABP B-27⁶⁸	AC → Doc	8%
Aberdeen⁶⁶	CAVP → Doc	5%
Nuestra serie	Carbo-ADR → Doc	↓ 10,9%

En los 3 primeros estudios la estadificación ganglionar preoperatoria se obtiene de la rama del estudio que recibe la QT tras la cirugía, es decir N0 catalogadas por linfadenectomía, y la pN0 es del brazo que se interviene tras la QT.

En nuestra serie la estadificación basal se realiza por ecografía y punción-biopsia ganglionar, si procede, por sospecha clínica y/o radiológica.

Los resultados discordantes pueden ser debidos a dos razones:

- La quimioterapia no es tan activa a nivel axilar como a nivel mamario
- La TNM clínica (N) es diferente a la anatomo-patológica (pN): la estadificación ganglionar anatomo-patológica considera el número de ganglios con infiltración tumoral y la estadificación clínica sólo la sospecha clínica (palpación) o la sospecha radiológica por diámetro o por características ecográficas. Si la afectación ganglionar es mínima

(microscópica) o no altera la morfología del ganglio, la evaluación radiológica exclusiva puede catalogar el caso como N0 siendo en realidad “pN1” o incluso “pN2-N3”. Por lo que existe un riesgo de falsos negativos.

Ante estos resultados, recomendamos la evaluación ganglionar pre-QT con la realización de una biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC). El objetivo es la estadificación correcta al diagnóstico evitando fenómenos “tipo Will Rogers” y de esta forma, el enfoque pronóstico y terapéutico será más preciso (planificación quirúrgica y necesidad de radioterapia).

6.5.1. Respuesta anatómo-patológica según fenotipo

No hay ninguna RCP en la población **luminal A** en nuestra serie, pero este dato no es discordante con los aportados en la literatura: es una población con un índice proliferativo muy bajo, en la que hoy en día se cuestiona la quimioterapia en presencia de otros factores que pudieran indicarla, como el diámetro o la afectación ganglionar. En la siguiente tabla (**Tabla 57**) se resumen los principales estudios con QT y las RCP según la expresión o no de los receptores hormonales. Se objetiva cómo la probabilidad de alcanzar una RCP disminuye en los tumores hormono-sensibles, especialmente en los lumbinales A.

Tabla 57. Análisis de las RCP según la expresión de receptores hormonales (RH). Modificado de Kaufmann *et al.*¹⁷¹

Autor	n	% RH neg.	% RCP RH neg.	% RCP RH pos.
Houston	1018	NA	20,6	5,6
Geparduo ¹⁵⁹	913	26,3	22,8	6,2
ECTO ⁶²	438	38,2	42,2	11,6
NSABP-B27 ⁶⁸	2411	32	16,7	8,3
Gepartrio ¹⁷²	296	31,9	36,6	10,1
Guarneri V ¹⁷³	1731	32	24	8

El Grupo Español de Investigación en Cáncer de Mama (GEICAM) publica en el año 2012 un estudio fase II randomizado en neoadyuvancia muy innovador, ya que en mujeres con CM con fenotipo luminal (ER+/PR+/HER2-/citoqueratina 8/18+) evalúa si se puede prescindir de la quimioterapia (**GEICAM 2006-03**)³⁰. 99 pacientes fueron randomizadas a recibir quimioterapia (EC y secuencialmente docetaxel) u hormonoterapia (exemestano, añadiéndose goserelina si las pacientes eran premenopáusicas). Las respuestas clínicas evaluadas por RM constituían el objetivo primario y se observaron 66% de respuestas en la rama con quimioterapia y 48% en la de hormonoterapia (P = 0.075). Se realizó un análisis no planificado según el Ki 67, y se vio que si el Ki-67 era bajo (<10%) las respuestas eran similares y sólo cuándo el Ki-67 era alto las pacientes tenían mejores respuesta con quimioterapia (67% frente 42%; p 0,075). Por lo tanto, se deduce de este trabajo que los tumores con un índice proliferativo bajo (Ki-67 < 10%) pudieran evitar la quimioterapia.

En contraposición, los tumores HER2 positivos suelen alcanzar con mayor probabilidad RCP, sobre todo si reciben trastuzumab neoadyuvante. En la **Figura 59**, se resumen estudios con QTNA y bloqueo anti-HER2 (exclusivo con trastuzumab o doble bloqueo, con la adición bien de pertuzumab o bien de lapatinib). En nuestra serie ninguna paciente recibió trastuzumab neoadyuvante (todas las pacientes HER2 positivas lo recibieron adyuvante) y la tasa de RCP es del 30,8%, muy en la línea de lo descrito por Cortazar *et al.*⁸⁸ para pacientes con tumores HER2 que no reciben trastuzumab neoadyuvante.

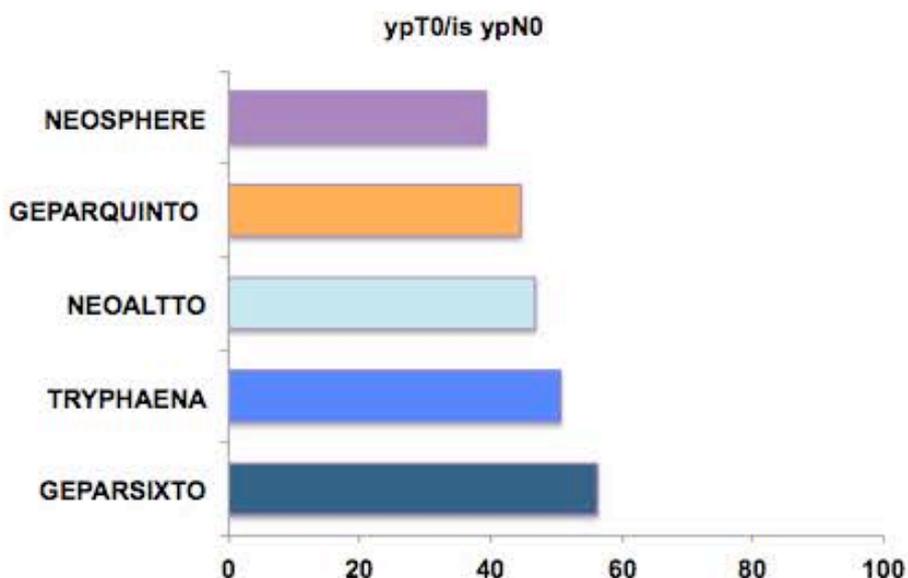


Figura 59. Tasa de RCP obtenida en población HER2 tratada con QTNA y terapia anti-HER2

El análisis específico de la población **TN** se analizará de forma detenida más adelante, pero, merece la pena comentar que es un subgrupo en el que habitualmente por su alto índice proliferativo e indiferenciación suelen responder a quimioterapia. En nuestra serie se alcanzan un 28,6% de RCP, pero a la vez, en el otro extremo es el tumor con mayor porcentaje de RCB III (es decir de pobre respuesta a QT), con un 23,8%. Las tasas de RCP en el metanálisis de Cortazar *et al.*⁸⁸ en este subgrupo, es del 33,6%. La siguiente tabla (**Tabla 58**) resume las RCP según los diferentes fenotipos en 11955 pacientes.

Tabla 58. RCP según fenotipos (tomado de Cortazar *et al.*⁸⁸)

Fenotipo	n	RCP (%)
Luminal A (RH+/HER2/grado 1-2)	1986	7,5 (6,3-7,8)
Luminal B (RH+/HER2-/grado 3)	630	16,2 (13,4-19,3)
Luminal B (RH+/HER2+)	Trastuzumab	385 30,9 (26,3-35,8)
	No trastuzumab	701 18,3 (15,5-21,3)
HER2 + (RH-/HER+)	Trastuzumab	364 50,3 (45-55,5)
	No trastuzumab	471 30,2 (26-34,5)
Triple negativo (RH-/HER2-)	1157	33,6 (30,9-36,4)

A pesar de que nuestra serie incorpora un platino, los resultados son extrapolables a los conseguidos con esquemas con antraciclinas y taxanos ya comunicados.

6.5.2. Comparación RCR y RCP

En nuestra serie, la concordancia de los diámetros por IRM con los patológicos del residuo tumoral post-tratamiento es muy alta en los tumores HER2 (71,4%) y TN (92,9%), y en torno al 50% de los tumores luminales. Recientemente Marinovich *et al.* comunican un metanálisis con 19 estudios y 958 pacientes en el que analiza la concordancia del diámetro del residuo tumoral medido por RM (y otras técnicas) con el de la pieza quirúrgica. Concluyen que la IRM sobreestima ligeramente el diámetro tumoral patológico (con resultados parecidos a los obtenidos por ecografía) y en cambio, tanto la mamografía como el examen físico aportan resultados muy discordantes respecto a los resultados patológicos. Recientemente, el mismo autor compara la IRM con otras técnicas en la evaluación tumoral post-quimioterapia y concluye que es la IRM el método más apropiado cuando se compara con la ecografía, mamografía o el examen físico¹⁷⁴.

De la misma forma, en nuestra serie, cuando se evalúan las respuestas completas se observa que la capacidad predictora de la RCP de la IRM es especialmente llamativa en los tumores TN con prácticamente una correlación del 100%. En cambio, la RM cataloga como respuestas completas a un 14,3% de tumores luminales A que no se confirman a nivel patológico. Estos falsos positivos pudieran deberse precisamente a su bajo índice proliferativo que no se traduce en las curvas de captación. De hecho, las mayores discordancias entre la evaluación radiológica y anatómo-patológica, encontrada en nuestra serie, se han objetivado en tumores lobulillares, tal y como se describe en la bibliografía relacionada¹⁶⁷.

Otros grupos confirman nuestros hallazgos. Monitorizan la respuesta por IRM durante la QTNA y analizan su capacidad predictora de RCP. Loo *et al.*¹⁶⁷, en 188 mujeres con CM encuentran que las respuestas por IRM de los tumores TN y HER2 positivos se correlacionan con las RCP, pero no ocurre así en tumores luminales.

Además, el análisis precoz de la respuesta medido por IRM tras los primeros 2 ciclos tiene buena correlación con la RCP¹⁷⁵. En un estudio español con 24 pacientes, se corroboran estos hallazgos ya que si se produce una reducción mayor del 23% en la primera evaluación con RM, se relaciona con RCP fundamentalmente en los tumores HER2 positivos y en los tumores triples negativos¹⁷⁶.

6.5.3. Factores predictores de RCP: Análisis univariante y multivariante

Los factores predictores de RCP obtenidos en el análisis multivariante, son factores que se determinan en la biopsia tumoral en el momento del diagnóstico.

En el primer análisis de nuestra serie (método *enter*), además del índice proliferativo (Ki-67), el grado y la presencia de TIL, los receptores hormonales (RE y RP) son variables independientes en la predicción de la RCP. La influencia del RE y RP en la respuesta anatómo-patológica ha sido detallada en el **apartado 6.5.1**.

En el segundo análisis, utilizando el modelo de selección automática de variables “hacia atrás condicional” los factores predictores de RCP seleccionados son el KI-67, grado y la presencia de TIL. Y por último se realiza un análisis incorporando a estas 3 variables, una que consideramos de relevancia clínica como p53. Tanto el grado nuclear desfavorable, como los tumores proliferativos (KI-67), p53, así como TIL, son indicadores ya reconocidos de respuesta a QT, que se detallan a continuación.

En nuestros casos, el grado nuclear es un predictor independiente de RCP, siendo más probable que se alcance con tumores desdiferenciados. Estos resultados coinciden con series como Von Minckwitz *et al.*⁸⁷. En el año 2012

describen cómo las RCP varían según los diferentes fenotipos y cómo en los tumores luminales, la probabilidad de respuesta anatómo-patológica se correlaciona directamente con la desdiferenciación tumoral. Los tumores luminales A bien/moderadamente diferenciados alcanzan un 7,5% de RCP, frente al 16,2% de los tumores luminales B pobremente diferenciados (**Tabla 33**). Del mismo modo, Lips *et al.*¹⁷⁷, concluyen en su estudio que el grado histológico es el que guía la quimiosensibilidad de los diferentes subtipos tumorales, incluso mejor que el propio índice proliferativo, la hormonosensibilidad y los subtipos intrínsecos.

El índice proliferativo medido con la tinción de Ki-67 (proteína nuclear que se expresa en células en fase de proliferación), actualmente se considera que cifras por debajo del 20% ayuda a clasificar a los tumores poco proliferativos, como por ejemplo los luminales A. Es un predictor de RCP y un factor pronóstico reconocido. En la literatura, concordante con nuestra serie, la proliferación es probablemente uno de los factores más importantes en la predicción de la RCP después de la QTNA¹⁷⁸.

El gen supresor **p53** se localiza en el brazo corto del cromosoma 17 (banda 13.1) codificando una fosfoproteína nuclear de 53 kilodalton. Esta proteína funciona como reguladora del ciclo celular, actuando como editor de lectura del DNA identificando posibles errores y deteniendo, de ser preciso, el ciclo celular en la mitad de la fase G1 y consecuentemente, evitando los errores que se produzcan durante la fase S. Juega, por lo tanto, un papel crucial en el control del ciclo celular. Además actúa como un factor de transcripción, activando otros genes involucrados en los procesos de proliferación celular y apoptosis. En el año 2012 se publica el estudio del genoma de los tumores mamarios y se objetiva como la mutación de p53 es frecuente y variable según los subtipos tumorales., La incidencia de mutaciones en p53 en los tumores luminales A es del 12% y en luminales B del 32%. En cambio en tumores HER2 y basales alcanza cifras del 75% y del 84% respectivamente¹¹⁹ (**Tabla 59**).

Tabla 59. Mutaciones p53 según fenotipos tumorales

Fenotipos tumorales	Porcentaje de mutaciones en p53
Luminal A	12%
Luminal B	32%
HER2	75%
Basales	84%

En su estado fisiológico normal (p53 wild type) la proteína p53 es rápidamente degradada, con un vida media limitada a 5-20 minutos, en cambio y debido a la inestabilidad química de los productos p53 mutados, su vida media se alarga y oscila entre 24 y 72 horas. Las proteínas mutadas se acumulan en el núcleo de las células tumorales, siendo fácilmente identificables por técnicas de IHQ, utilizando anticuerpos monoclonales anti-p53. Por esta razón se pensó que podría ser un marcador de la mutación en p53. A pesar de que la tasa de falsos positivos y negativos es de casi un 30% si se compara con el análisis por secuenciación¹⁷⁹ y de que el panel de ASCO no recomienda su análisis de forma rutinaria¹⁸⁰, en nuestro centro se ha determinado por IHQ de forma sistemática.

El hecho de que su mutación sea universal en todos los fenotipos (de forma más marcada en aquellos tumores más proliferativos), junto a su papel en la regulación del ciclo celular, provoca que su presencia en la IHQ sea un marcador de quimiosensibilidad. En nuestra serie no se ven diferencias significativas de la expresión de p53 y RCP según fenotipos tumorales, pero sí se demuestra su impacto como factor predictor de RCP en la población global. Un metanálisis de 26 estudios, también demuestra que la expresión de p53 es un buen predictor de respuesta tras QTNA en CM¹⁸¹.

En la literatura, ya se comunican análisis conjuntos de dos de las proteínas que en nuestra serie resultaron significativas. Recientemente, se analiza el papel de tres biomarcadores evaluados conjuntamente (p53, Ki-67 y Bcl-2) como

predictores de RCP, en 198 pacientes diagnosticadas de CMTN. Se observa una asociación entre la RCP y la sobre-expresión de p53 y Ki-67. Sin embargo, en el análisis multivariante sólo p53 se asocia a RCP tras QTNA (OR 3.961; $p=0.003$). La sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo fueron del 77.8%, 50.3%, 26.2%, and 90.9%, respectivamente. La co-expresión alta de p53 y Ki-67, incrementaba las RCP al 25% y si era bajo sólo eran del 5,2%¹⁸².

Kurozumi *et al.*¹⁸³, en la línea de los resultados de nuestra serie, comunican como la falta de expresión de RE y RP, el Ki-67 elevado, un grado desdiferenciado y p27, son factores predictores de RCP en CM, en este caso con fenotipo HER2.

El análisis de los TIL y su relevancia con factor predictor de respuesta, aunque se describirá con mayor detenimiento en el **apartado 6.10**, revela que la presencia de TIL es un predictor de RCP; un 40% de los tumores con infiltrado linfocitario predominante, alcanza RCP frente a sólo un 10% de los que no lo tienen, este hecho también está documentado en la bibliografía más reciente¹⁸⁴.

El grado nuclear, el índice proliferativo, p53 y la determinación de TIL, se confirman como factores predictores de RCP. Con sólo 4 variables histológicas determinadas en la biopsia tumoral, la capacidad predictiva de RCP alcanza un AUC de 0,90, con una sensibilidad y una especificidad aceptable. Estos resultados son concordantes con los comunicados en la literatura actual.

6.6. Radioterapia, hormonoterapia y trastuzumab

Tanto la indicación de radioterapia como la de hormonoterapia, siguen los estándares clínicos y no se va a realizar una discusión al respecto, ya que no es el objetivo de este proyecto.

Quizás, sí merezca la pena detenerse un poco más en la población HER2 y en los porqués de las discordancias diagnósticas y terapéuticas. Coincidiendo con este análisis y dada la tasa de falsos positivos anteriores a la utilización del anticuerpo policlonal, se repitió la determinación de HER2 a todas las pacientes en las que no se hubiera realizado *hibridación in situ*. Se detectaron un total de 13 falsos positivos. Por otra parte, la indicación de trastuzumab adyuvante en España fue aprobada en el año 2006 y por este motivo, algunas pacientes con tumores HER2 no fueron candidatas al bloqueo anti-HER2 y otras, en cambio, recibieron tratamiento con trastuzumab en base a un determinación que ha resultado ser un falso positivo. Por estos motivos, los análisis y las conclusiones en la población HER2 tienen ciertas limitaciones.

6.7. Otros datos histológicos

Hace años se comunicaba el valor pronóstico de la invasión vascular ganglionar pero no de la infiltración directa de la cápsula o la extensión extracapsular al tejido graso o al tejido conectivo¹⁸⁵. La extensión capsular ganglionar, clásicamente se ha considerado como un factor histológico de riesgo de recaída local. Su papel en el riesgo de recurrencia a distancia es controvertido. Algunos autores, se plantean qué es más relevante en la evolución a largo plazo de las pacientes, el número de ganglios o la extensión tumoral extraganglionar. Concluyen que el número de ganglios con infiltración tumoral es el factor más relevante para supervivencia¹⁸⁵. En nuestra serie, se describen un 20% de tumores con extensión extracapsular (invasión/rotura). En

el análisis univariante se muestra como factor pronóstico (p 0,098), aunque se pierde su significación en el análisis multivariante.

En nuestra serie se describen un 11,8% de tumores con invasión vascular en el tumor primario o ganglionar, claramente inferior a otros trabajos, en los que este factor pronóstico desfavorable se presenta en el 55% de los tumores¹⁸⁶. En un metanálisis, que incluye 6 estudios, se comunica la correlación entre la invasión linfovascular y ciertos factores clínico-patológicos como el diámetro, la edad, el grado histológico y la afectación ganglionar¹⁸⁷. En nuestros casos, de nuevo se confirma su valor pronóstico en el análisis univariante (p 0,077) y desaparece la significación en el multivariante.

6.8. Supervivencia

6.8.1. Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global

En la mayoría de series comunicadas con la utilización de quimioterapia neoadyuvante, las pacientes tienen peores supervivencias a largo plazo fundamentalmente porque hasta hace poco los tumores incluidos eran aquellos localmente avanzados. En nuestra serie se han incluido fundamentalmente etapas II por lo que los resultados de SG con un seguimiento de casi 8 años son llamativamente altas.

Los resultados a largo plazo están en consonancia con los publicados por GEICAM con el proyecto ALAMO III, y concretamente con las pacientes diagnosticadas de CM y etapas I-III tratadas de forma preoperatoria con QT. La SLE y SG a 7 años es de 64,3% y 78,2% respectivamente¹⁸⁸. Del mismo modo si comparamos nuestra serie con otras internacionales las cifras de SLE y SG son similares o incluso mejores (NSABP B-18 , SG 72% a 8 años y NSABP B-27, SG 75% a 8 años)¹⁸⁹.

6.8.2. Factores pronósticos: Análisis univariante y multivariante

Se describen a continuación los 6 factores pronósticos independientes en el análisis multivariante: edad, grado nuclear tras QTNA, pT, pN, Ki-67 y RCB.

La edad de las pacientes es un factor predictor de RCP. La probabilidad de alcanzarla es mayor en las mujeres menores de 35 años¹⁹⁰ y también un factor pronóstico, siendo peor en las jóvenes y en las mayores de 65 años. Aunque, en nuestra serie ambos grupos están poco representados (<35 años: 7 pacientes y > 60 años 21 pacientes), sólo se alcanzan diferencias en las pacientes jóvenes.

Globalmente, la supervivencia a 5 años es peor (74,4% frente 83,8-88,3%¹⁹¹) en las mujeres menores de 35 años y especialmente esto se verifica en el subtipo TN¹⁹². La edad temprana se asocia a tumores más indiferenciados y proliferativos, sin dependencia hormonal y en ocasiones, debutan como localmente avanzados (“inflamatorios”) asociados a demora diagnóstica. Todos ellos son rasgos que se asocian con un comportamiento biológico más agresivo.

Por otra parte, también se describe que la supervivencia de las pacientes mayores de 65 años es peor. Tienen tumores más avanzados al diagnóstico, pero en su evolución, también influyen factores no ligados directamente al tumor: la comorbilidad que impide la administración de ciertos tratamientos y además la heterogeneidad en los mismos¹⁹³. En nuestra serie no se confirman estas observaciones.

El grado nuclear (GN) se estudió en la biopsia del diagnóstico y posteriormente tras la QTNA en la pieza quirúrgica. Además se analizó cómo variaba el grado antes y después de la QT. La determinación del GN de Black en el residuo tumoral tras la administración de QTNA, puede resultar paradójico si asumimos que estos cambios evidenciados en el núcleo son motivados por el propio

mecanismo de acción de la quimioterapia, cuya diana es precisamente el núcleo. Pero, curiosamente, los tumores que no alcanzan RCP, no todos tienen el mismo comportamiento: en algunos hay células con núcleos “monstruosos” y en otras prácticamente no se evidencian alteraciones. Los principales cambios citológicos post-quimioterapia descritos en los carcinomas son: por un lado la disminución de la celularidad, y por otro cambios secundarios al tratamiento: distorsión de la arquitectura glandular, aumento del citoplasma con vacuolización, núcleos pleomórficos, hiper cromáticos y bizarros y disminución de la actividad mitótica¹⁹⁴.

Por estas razones, se decidió determinar el GN en la biopsia y en la pieza, así como evaluar los cambios producidos tras la administración de la QTNA. Estas alteraciones post-QT son bien conocidas y se describen como fenómenos transitorios. En nuestra serie, se pone de manifiesto cómo el GN determinado en el residuo tumoral tiene una capacidad pronóstica, incluso por encima del grado analizado en la biopsia, Hay tumores en los que se produce un “viraje” (de bien diferenciado a indiferenciado y viceversa). Esta afirmación no ha sido confirmada en otros trabajos¹⁹⁵. Aunque no se encuentran referencias bibliográficas del papel pronóstico del GN determinado tras QTNA, a la vista de nuestros resultados sería recomendable profundizar en el estudio de la pieza quirúrgica, aportando datos patológicos de interés pronóstico como el GN.

Como ya se ha comentado previamente, el sistema de evaluación de respuesta anatomo-patológica comunicado por Symmans *et al.*, (RCB)¹⁰¹ es el recomendado para cuantificar la enfermedad residual dentro de ensayos clínicos⁹⁷, entre otras razones por su correlación con la evolución a largo plazo.

Las curvas de SG obtenidas en nuestra serie según RCB son muy parecidas a las publicadas por Symmans *et al.*¹⁰¹, confirmando su valor pronóstico a largo plazo. Ningún trabajo hasta ahora, había validado este sistema con un seguimiento tan prolongado y con la utilización de un régimen de QT basado en sales de platino. Por otra parte, el análisis multivariante, sólo selecciona a RCB

entre todos los sistemas de evaluación de respuesta, por su capacidad predictora a largo plazo.

Recientemente, se comunica un sistema que añade la medición de la proliferación en el residuo tumoral al RCB (RCB proliferativo) para predecir los resultados a largo plazo tras QTNA¹⁹⁶ y según estos autores se mejora su capacidad pronóstica. Otros trabajos sugieren que el infiltrado linfocitario tumoral y sus cambios tras el tratamiento preoperatorio, también ayudan a afinar el pronóstico¹⁹⁷. Pero el papel del TIL y del Ki-67 en la evaluación de respuesta está todavía pendiente de elucidar.

Otras dos variables que muestran significación en el análisis multivariante, son el **diámetro** tumoral (pT) y el número de **ganglios** infiltrados por tumor (pN) en la pieza quirúrgica. Ambos son factores pronósticos independientes “clásicos”: a mayor diámetro y a mayor afectación ganglionar peor evolución¹⁹⁸. La **tabla 60**, muestra la SG según el diámetro tumoral y la afectación ganglionar.

Tabla 60. SG según diámetro tumoral y afectación ganglionar¹⁹⁸

Diámetro	Supervivencia global a 5 años
- Menor de 2 cm	91%
- 2 a 5 cm	80%
- Mayor de 5 cm	63%
Ganglio	Supervivencia global a 5 años
- Sin afectación ganglionar	96%
- 1-3 ganglios con tumor	86%
- >3 ganglios con tumor	66%

Tanto el diámetro tumoral como la carga ganglionar son factores reconocidos²⁷ que se confirman en nuestra serie. La persistencia tumoral a nivel ganglionar, a pesar de una RCP a nivel mamario, confiere peor pronóstico.

En nuestros casos, Ki-67 es la única variable de toda la serie, que se comporta como factor predictor de respuesta (**apartado 6.5.3.**) y también como factor pronóstico. En CM localizado, la correlación de Ki-67 y supervivencia está ampliamente referenciada. En la literatura, dos metanálisis son concordantes en su valor pronóstico independiente^{199,200}. En uno de ellos¹⁹⁹, se analizan 12155 pacientes y se observa que la expresión de Ki-67 se asocia con un mayor riesgo de recaída (HR=1.93; IC 95%:1.74-2.14; p<0.001), y de muerte (HR=1.95; IC 95%: 1.70-2.24; p<0.001) independientemente de la afectación ganglionar.

La metodología en los diferentes centros no está estandarizada. Su interpretación es subjetiva y los puntos de corte utilizados para la decisión terapéutica son variables. Por estas razones, el empleo rutinario de ki-67 como marcador pronóstico es controvertido^{180,201}, pero en combinación con otras proteínas como RE, RP y HER2²⁰¹ suele guiar el enfoque clínico.

Entre las curvas de SG en función de los diferentes factores pronósticos, de nuevo destacamos las curvas de SG según RCB, ya que confirman al método RCB como un factor pronóstico independiente con un seguimiento tan prolongado y con la utilización de un régimen de QT basado en sales de platino.

El resto de curvas de SG (según fenotipo, edad, grado nuclear y RE) van en consonancia a lo conocido. Se confirma mejor pronóstico de las mujeres con más de 35 años y de los tumores luminales (sobre todo luminales A). Por otro lado, hay una peor evolución de los triples negativos, de los tumores con grado nuclear desfavorable y de los que no expresan RE.

Mención aparte merecen los resultados de la población HER2. Por los motivos técnicos ya mencionados, además de los temporales (muchas pacientes se incluyeron antes de la aprobación de trastuzumab en adyuvancia), las conclusiones emitidas en este subgrupo tienen limitaciones. De hecho, la SG

de las pacientes con tumores HER2 no es tan favorable como la comunicada en otras series que reciben tratamiento con trastuzumab. Esto puede ser debido a que algunas pacientes no recibieron trastuzumab y en las que sí lo recibieron, se prescribió de forma postoperatoria. Recientemente Palmieri *et al.*²⁰², describen cómo la administración del trastuzumab concomitante con la QT neoadyuvante no sólo confiere una tasa de respuestas anatómo-patológica superior sino que también otorga una ventaja significativa en SG, frente a la administración diferida tras la cirugía. Este beneficio es más manifiesto en la población sin dependencia hormonal. En el contexto adyuvante, se confirma de nuevo cómo la administración precoz del trastuzumab (simultánea a la QT) es superior a su uso secuencial²⁰³.

6.8.3. Comparación de los sistemas de evaluación de respuesta anatómo-patológica

La capacidad pronóstica de los diferentes sistemas de evaluación de respuesta anatómo-patológica es variable. En esta serie, se pretende validar el RCB (ya comentado) y a la vez confrontarlo con otros sistemas. Con las curvas ROC aunque los resultados no son brillantes, el RCB es la mejor frente a otras clasificaciones (**Tabla 42**). Posiblemente la evaluación de la carga residual tumoral tanto en mama como axila, supere a la evaluación exclusiva del tumor primario que establece el sistema de Miller y Payne.

Recientemente, en el congreso americano de San Antonio, un grupo español evalúa de forma retrospectiva a 333 pacientes con CM etapas I-III y se comparan dos sistemas de evaluación de respuestas: RCB y el de Miller y Payne. La distribución por fenotipos es similar a nuestra serie (**Tabla 19**): luminales 50,9%, HER2 31% y TN 18,1%. Se obtienen un 14% de RCP de forma global y un 30% en la población TN. Con un seguimiento de casi 5 años el índice RCB es superior en la predicción de SG y SLE, respecto al Miller y Payne²⁰⁴.

El grupo coreano de Lee *et al.*¹⁸⁵, comunica en los diferentes subtipos de cáncer de mama, 6 sistemas de evaluación de respuesta anatómo-patológica (ypTNM RCB, RDBN, ratio de respuesta tumoral, clasificación de Sataloff²⁰⁵, y Miller-Payne) y comparan los resultados en 588 pacientes con tumores mamarios tratados con antraciclinas con y sin taxanos. En los tumores triples negativos, todos los sistemas se asociaban con diferencias significativas en SLE y SG. En cambio en los tumores RH+/HER2- sólo los sistemas que evalúan el residuo tumoral se correlacionaban con la supervivencia, y en cambio en la población HER2 este correlato con la supervivencia era diferente según el sistema utilizado.

Todo esto pudiera ser consecuencia, a los distintos comportamientos de cada uno de los subtipos tumorales. Así, los tumores TN suelen presentarse como una masa única en la imagen radiológica basal y suele mostrar una densidad celular muy elevada en la biopsia diagnóstica. Los tumores sin dependencia hormonal suelen tener grados histológicos y nucleares desfavorables, con una infiltración linfocitaria superior a los tumores con RE positivos. Y en general, estas características se mantienen tras la QTNA. De esta manera, los tumores TN suelen tener respuestas concéntricas, manteniendo el alto grado y la densidad celular; los tumores hormono-dependientes suelen tener márgenes infiltrativos y abundante componente in situ. Estas diferencias pueden afectar a la clasificación del tumor residual según los distintos sistemas de evaluación de respuesta¹⁸⁵. En nuestra serie no se ha pormenorizado el estudio de los fenotipos y su comportamiento en las respuestas con los diferentes sistemas de evaluación por cuestiones numéricas.

6.9. Análisis específico de la población triple negativa

6.9.1. Características de las pacientes y de los tumores

Globalmente, los tumores triples negativos representan un 10-20% de todos los tumores mamarios. Esta variabilidad depende de la definición más o menos estricta de los límites de positividad del RE y del RP. En nuestra serie constituye casi un 20%, cifra que está en consonancia con lo descrito en diversos estudios de neoadyuvancia cuando se incluían tumores mamarios sin atender a rasgos fenotípicos³⁸.

Existen diferencias epidemiológicas entre los tumores triples negativos y el resto. Por un lado, este subtipo es más frecuente en mujeres de raza afroamericana²⁰⁶, de las que no hay representación en nuestra serie. Por otro, hasta el 20% de los tumores TN tienen una mutación o déficit BRCA1, frente al 6% si consideramos todos los CM. De nuestros casos, un 14,3% de TN tienen mutación en BRCA1/2 (o se ha determinado), frente al 1,1% del resto de fenotipos. El fenotipo TN junto con la edad (<50 años) son factores, que motivan la derivación a unidades de consejo heredo-familiar⁸.

Además los tumores TN son más frecuentes en premenopáusicas, mujeres que han tenido 3 ó más hijos, con lactancias de corta duración (menos de 2 meses)^{207,208} y cuánto más temprana es la edad del embarazo. Esto coincide con nuestra serie donde los tumores TN son más frecuentes en las pacientes que han tenido más de 2 hijos y lactancias inferiores a 4 meses. En la **tabla 61** se realiza una comparación de los factores epidemiológicos en la población TN de nuestros casos y los descritos en la literatura, en dos poblaciones diferentes, americana²⁰⁸ y española²⁰⁷. Tal y como detalla la serie española con 510 mujeres diagnosticadas de CM²⁰⁷, los diferentes fenotipos tumorales se asocian con la duración de la lactancia y el número de gestaciones. Así, los

tumores TN son menos frecuentes en lactancias prolongadas (> 7 meses) y con menos de 2 embarazos, en comparación con los tumores luminales A. Esta asociación no alcanza significación en este proyecto (con las limitaciones derivadas del número de pacientes).

La obesidad es un factor de riesgo reconocido para el desarrollo de CM hormono-dependientes en la mujer menopáusica. Recientemente también se ha reconocido que la obesidad (IMC ≥ 30 , o la ratio cintura/cadera) es un factor etiológico en los tumores TN. Un metanálisis²⁰⁹ que incluye 11 estudios y 24479 confirma estos hallazgos (OR 1,2, IC 95% 1,03-1,40), fundamentalmente en la mujer premenopáusica (OR 1,43, IC 95% 1,23-1,65). En esta serie el IMC >30 es más frecuente en el fenotipo TN (38,1%) que en el resto de subgrupos (22,5%). El mecanismo etiopatogénico no está bien conocido, aunque algún factor como IGF (*Insulin growth factor*) se postula, entre otros como posible desencadenante. En nuestra serie, se describen un 38,1% de obesidad frente al 22,5% del resto de fenotipos (**tabla 43**)

Por lo tanto, los resultados son concordantes con lo descrito en la bibliografía y confirman que nos encontramos con una entidad (o varias) con claras diferencias epidemiológicas que la distinguen del resto de fenotipos.

Tabla 61. Comparación de las características epidemiológicas de varias series con tumores TN

Datos epidemiológicos	Nuestra serie TN, n=21		Serie Shinde ²⁰⁸ TN=468, n=2473		Serie Redondo ²⁰⁷ TN=39, n=510	
	n	%	n	%	n	%
Edad menarquia, años (mediana)	13 ± 1,36		12,58 ± 1,51		13,2 ± 1,7	
Historia familiar CM, sí	8	38,1	106	22,6	8	20,51
Menopausia						
- No	11	52,4	304	65	21	53,85
- Sí	10	47,6	161	35	18	46,15
Paridad						
- nuligesta	4	19	361*	14,60*	4	10,26
- 1-2 hijos	9	42,9	1175*	47,51*	25	64,10
- > 2 hijos	7	33,3	904*	36,55*	10	25,64
- desconoc	1	4,8	33*	1,33*	0	0
Lactancia						
- No	4	19	256	54,7	16	41,02
- 1-4 meses	6	28,6	-	-	14	35,90
- > 4 meses	3	14,3	-	-	5	12,82
- Desconoc	8	38,1	-	-	4	10,26
THS						
- No	15	71,4	292	63	-	-
- Sí	1	4,8	170	37	-	-
- Desconoc	5	23,8	0	0	-	-

* Datos de todos los fenotipos

El comportamiento del subtipo TN en IRM tiene peculiaridades radiológicas características^{210, 211}. Suelen ser lesiones unifocales, de tipo masa, de alto grado histológico, márgenes definidos, realce en anillo, patrón de realce persistente, intensidad de la señal intratumoral muy alta en T2 y se asocian con necrosis intratumoral. Habitualmente son tumoraciones que no asocian calcificaciones ni componente in situ, por lo que el diagnóstico exclusivamente por mamografía es difícil, y el diagnóstico como tumor de intervalo no es

infrecuente. Estos datos también se corroboran en los hallazgos de nuestra serie.

Respecto a las características anatómo-patológicas, los tumores TN tienen un curso evolutivo agresivo por su diámetro, afectación ganglionar e índice proliferativo. En nuestra serie, la afectación ganglionar y el diámetro no difiere de forma significativa con otros fenotipos, salvo por una mayor incidencia de tumores inflamatorios (19% en TN frente al 9% otros fenotipos). En cambio son tumores llamativamente proliferativos y con un grado tumoral más desfavorable respecto a los tumores “no TN”.

Estos resultados son concordantes con los comunicados en otros trabajos focalizados en tumores TN^{38,212,213} (**tabla 62**). Aunque el estudio de Kern *et al.*²¹³, sólo incluye 30 pacientes, se comenta en la revisión porque son pacientes tratadas de forma homogénea con quimioterapia con carboplatino y docetaxel.

La afectación ganglionar habitualmente se correlaciona con el diámetro tumoral, pero en los tumores TN se rompe esta relación directa³⁸. Así, tumores de pequeño diámetro pueden tener afectación ganglionar o incluso sin ella pueden diseminarse a distancia. En nuestras series, todos los tumores menores o iguales a 25 mm (n=4) tienen afectación ganglionar y ninguno de los que miden más de 50 mm, la tienen (n=6).

Tabla 62. Características de los tumores TN: comparativa con otras series

Características de los tumores TN	Nuestra serie TN, n= 21		Serie Gerber ²¹² TN, n= 663		Serie Dent ³⁸ TN, n= 180		Serie Kern ²¹³ TN, n=30	
Edad, años (media)	52,4 (31-75)		48		53		56,3 (28-76)	
Diámetro tumoral, mm (mediana)	35 (22-75)		31,3		30		20,2 (8,4-93)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Diámetro tumoral (T)								
- T1/T2	14	66,7	557	84,3	164	92,1	28	93,3
- T3	3	14,3	47	7,1	14	7,9	0	0
- T4	4	19	57	8,6	-	-	2	6,6
Afectación ganglionar								
- N0	13	61,9	272	42,4	70	44,6	19	63,3
- N1/N2/N3	8	38,1	369	57,6	87	54,4	7	23,3
GN de Black								
- GN1	12	57,1	471	71,4	101	66,0	23	76,7
- GN2	8	38,1	182	27,6	37	24,2	6	20
- GN3	0	0	7	1,1	15	9,8	1	3,3
- Desconoc.	1	4,8	3	-	0	0	0	0
Invasión vascular								
- Ausente	18	85,7	-	-	99	60,4	-	-
- Presente	3	14,3	-	-	65	39,6	-	-

6.9.2. Tratamientos aplicados

A pesar de tratarse de tumores agresivos, el fenotipo triple negativo no influye en la agresividad quirúrgica y más bien son otros factores como las variables clínico-anatomo-patológicas tradicionales y la preferencia de la pacientes las que decantan la opción quirúrgica²¹⁴. Hay autores que descartan que una cirugía conservadora junto con radioterapia, asocie un mayor tasa de recaídas locales²¹⁵.

Por otra parte, como se describirá más adelante, en la población triple negativa hay un porcentaje superior de pacientes (mutaciones germinales) y de tumores (mutaciones somáticas) con alteraciones en el sistema de reparación homóloga (BRCA entre otros). Cuando se analiza el riesgo de recaída local y contralateral en pacientes con CM tratadas con cirugía conservadora y radioterapia²¹⁶, se describen más recaídas contralaterales en pacientes con mutación BRCA frente a los controles, sin embargo no se incrementan las recaídas locales. Posiblemente esto sea debido a que los tumores mamarios portadores de mutaciones BRCA son más radiosensibles.

En nuestra serie, aunque se produjeron 2 recaídas locales ambas coincidieron con diseminación a distancia. La opción conservadora es válida en tumores triples negativos si no hay otras condiciones que lo desaconsejen.

6.9.3. Respuestas

En nuestra serie, la tasa RCP (28,6%) conseguida en CMTN con QT basada en carboplatino, doxorubicina y un taxano es superior a la alcanzada en otros subtipos como luminales y parecidas a las conseguidas en los tumores HER2 no tratadas con trastuzumab. Y estos resultados son concordantes con lo obtenido con antraciclinas y taxanos: en un análisis combinado de 12 estudios (CTNeoBC) que utilizaron varios regímenes de QTNA (ninguno de ellos con platino) se describen una tasa de RCP en el subgrupo triple negativa del 33% (31%-36,5%)⁸⁸, tal y como se refleja en la **tabla 58**.

Por otra parte, Liedtke *et al.*²¹⁷, es uno de los primeros en describir las peculiaridades del fenotipo TN en comparación con otros subtipos. Estudia 1.118 pacientes con CM etapa I-III tratadas con QTNA en el MDACC (MD Anderson Cancer Center), y analiza el comportamiento de los tumores TN (n=255) frente a los demás, en términos de respuestas y supervivencia. La probabilidad de alcanzar RCP es mayor en este subgrupo (22% frente 11%, p

0,034), y aunque la SLE y la SG a 3 años es peor, los resultados a largo plazo de los tumores que alcanzaban RCP, eran muy similares a los tumores sin este fenotipo. La **tabla 63** resume las RCP obtenidas en los principales estudios que incluyen pacientes con tumores triples negativos y con regímenes de QT basados en antraciclinas y taxanos.

Tabla 63. Principales estudios en CMTN con QTNA con antraciclinas y taxanos

Estudio	Tipo QT	n, TN	RCP
Nuestra serie	Carbo-ADR → Doc	21	6 (28%)
Rouzier R⁹³	TFAC	22	10 (45%)
Carey LA⁹⁴	AC → T	34	9 (26%)
Liedtke C²¹⁷	FAC/FEC ó TFAC/TFEC	225	57 (22%)
Wang S²¹⁸	Taxano/Antraciclina	21	8 (38%)
Keam B²¹⁹	Doc/ADR	47	8 (17%)
Gerber B²¹²	EC → Doc	340	112 (32,9%)

Nuestra serie se caracteriza por incluir un platino, al esquema clásico con antraciclinas y taxanos. En los años en los que se llevó a cabo la inclusión de pacientes -no seleccionadas por fenotipo tumoral- la utilización de regímenes basados en sales de platino constituía una opción terapéutica, aunque su utilización se centraba fundamentalmente en la enfermedad avanzada¹⁰⁸. De forma progresiva, se han incorporado al contexto adyuvante y neoadyuvante, priorizando su empleo en los tumores triples negativos.

La **tabla 64** resume algunos fase II con cisplatino o carboplatino en monoterapia o combinación. Se indican el número de tumores que son triples negativos y cuántos alcanzan RCP²²⁰.

Tabla 64. Estudios fase II con platinos en monoterapia o combinación en tumores triples negativos. Modificado de von Minckwitz *et al.*²²⁰.

Autor	Quimioterapia	Triples negativos, n	RCP (%)
Silver DP ²²¹	Cisplatino	28	21
Sikov WM ²²²	Paclitaxel y carboplatino	12	67
Chen XS ²²³	Paclitaxel y carboplatino	24	33
Kern P	Docetaxel y carboplatino	13	77
Roy V ²²⁴	Docetaxel y carboplatino	9	44
Chang HR ²²⁵	Docetaxel y carboplatino	11	53

Las RCP descritas en estos trabajos, son discretamente superiores a las conseguidas en nuestra serie, si bien el número de pacientes no supera en ningún caso a la treintena y pudieran estar enriquecidos con tumores basales, más sensibles a platino.

El estudio GEICAM 2006-03²²⁶ analiza el papel del carboplatino en 94 pacientes con CM operable y con fenotipo basal determinado por inmunohistoquímica (RE-/RP-/HER2-/CK5/6+ o EGFR+). Aleatoriza a las pacientes a 4 ciclos EC (epirrubicina 90 mg/m² y ciclofosfamida 600 mg/m²) seguidos de otros 4 ciclos con docetaxel 100 mg/m²; o un esquema idéntico pero el docetaxel a 75 mg/m² combinado con carboplatino. El objetivo primario eran las RCP según los criterios de Miller y Payne. Se alcanzaron 35% de RCP en el brazo sin platino y el 30% de RCP en el brazo experimental. La tasa de respuestas clínicas con y sin platino fueron del 77% y del 70%, respectivamente. Las toxicidades grado 3/4 fueron similares. Consideran que la falta de eficacia con la incorporación del carboplatino pueda ser debida a que las pacientes habían recibido un agente alquilante.

A continuación se detallan estudios más recientes (**tabla 65**) que no sólo incorporan las sales de platino, sino que en muchos de ellos añaden esquemas

de dosis densas, bevacizumab y doble bloqueo anti-HER2 (en la población HER2), por lo que sus resultados no son comparables con este trabajo, aunque merece la pena mencionarlos.

Tabla 65. Principales estudios en neoadyuvancia con carboplatino y tasa RCP (tomada de Valsecchi²²⁷)

Estudio	QT	RCP, n (%)	Comentarios
GeparSixto ¹⁵¹	Pac, ADR lipos sem Beva cada 21 días	58/157 (37)	Reducción dosis carbo por toxicidad (AUC 2 → AUC 1,5)
	Pac, ADR lipos y Carbo sem Beva cada 21 días	84/158 (53)	
CALGB 40603 ⁸⁴	Pac sem → AC dd	87/212 (41)	RE neg < 10% RCP → ypT0/is (sólo mama)
	Pac sem → AC dd y Beva		
	Pac sem y Carbo → AC dd Pac sem-Carbo → AC dd- Beva	119/221 (54)	
GEICAM 2006-03 ²²⁶	EC → Docetaxel	16/46 (35)	TN→ RE-, RP-, HER2-, CK5/6+, EGFR+
	EC → Docetaxel y Carbo	14/48 (29)	
KCSG BR-0905 ²²⁸	Docetaxel y Carbo	19/45 (42)	No randomizado

Por último, ya se ha mencionado la actividad de las sales de platino en los tumores triples negativos, pero son especialmente activos en los tumores basales en los existe una alteración en el sistema de recombinación homóloga, fundamentalmente mutaciones BRCA en línea germinal (o inactivaciones –tipo metilación- que provocan un fenotipo BRCAness). En estas situaciones los agentes alquilantes, como las sales de platino²²⁷, provocan un daño en el DNA que la célula tumoral no es capaz de reparar. Estudios como el GEPARSIXTO²²⁹ y PrECOG 0105²³⁰ describen cómo la incorporación de un

platino, incrementa de forma muy llamativa las RCP en pacientes con tumores TN y deficiencia de BRCA frente a los tumores que no son portadores de la mutación.

En resumen, la tasa de RCP en la población TN es superior a la obtenida con otros fenotipos, y está en consonancia con otros estudios que incorporan sales de platino.

El análisis de los factores predictores de RCP en los tumores TN se lleva a cabo en 21 pacientes. A pesar de las limitaciones numéricas, hay dos variables que alcanzan significación estadística: CTLA-4, midiendo su expresión en linfocitos (p 0,001) y el LPBC determinado en la biopsia preoperatoria (p 0,018). El segundo de los factores se analizará detalladamente más adelante.

CTLA-4 (Antígeno 4 asociado al Linfocito T Citotóxico), es un homólogo de CD28 con el que comparte 2 ligandos: B7-1 (CD80) y B7-2 (CD86), pero CTLA-4 tiene una afinidad por estos ligandos muy superior a CD-28. Habitualmente, se expresa con niveles bajos en la superficie de las células T reguladoras, y cuando el sistema inmune se activa, regula la respuesta inmune por un mecanismo de retroalimentación negativo (es un *check-point* de control negativo). En CM, CTLA-4 está sobreexpresado y consecuentemente ejerce un freno a la respuesta inmune desencadenada por el tumor. En los últimos años se han desarrollado anticuerpo monoclonal IgG1 humanizado dirigido frente a CTLA-4 (ipilimumab) que ya se utiliza con éxito en varios tumores, como melanoma.

En nuestra serie, 3 de las 4 muestras en las que los linfocitos expresan CTLA-4, son tumores BLIA (ver más adelante) y su expresión no solo es un factor sino también pronóstico. Aunque, el tamaño muestral es pequeño para sacar conclusiones, pero es una hipótesis para seguir investigando en esta línea.

6.9.4. Supervivencia

Los tumores triples negativos si recaen, habitualmente lo hacen en los 2-3 primeros años²³¹, y lo hacen a nivel visceral y menos frecuentemente a nivel óseo²¹⁷. La paradoja de los tumores TN descrita por Rastelli *et al.*³⁹, es que a pesar de respuestas brillantes, recaen de forma precoz y multisistémica.

Todavía no tenemos datos de SLE ni de SG de los estudios más recientes que incorporan carboplatino a las antraciclinas y taxanos (GEPARSIXTO y CALGB 40602) y aunque incrementan las RCP en un 15%, todavía no se han incorporado en la práctica clínica habitual, con excepción de su papel creciente en TN y en pacientes/tumores con mutaciones en BRCA²³².

De nuevo, se efectúa un análisis exploratorio para analizar los principales factores pronósticos en la población TN. En la batería de proteínas seleccionadas, CTLA-4 alcanza diferencias significativas, como ya se ha comentado. p53, próximo a la significación, también es un factor pronóstico en la población TN. Se han descrito mutaciones en p53 en mayor o menor medida prácticamente en todos los subtipos, salvo la población LAR.

6.9.5. Clasificación de la población TN

Desde hace más de una década, se ha intentado definir y caracterizar un fenotipo que inicialmente fue denominado “triple negativo” por la falta de expresión de tres proteínas. Posteriormente, Cheang *et al.*²³³, identifican un subgrupo con características comunes aunque no coincidentes con los tumores TN, y determinan el fenotipo basal con la determinación de 5 biomarcadores (RE; RP; HER2; EGFR y CK 5/6) en lugar de los tres clásicos (RE; RP y HER2). Desde entonces, y gracias a los perfiles génicos, como PAM50, se han identificado e incorporado otros subtipos como “*claudin-low*”¹²⁴. Más recientemente, surgen las clasificaciones de Lehmann¹¹⁵ y Burstein¹¹⁶ que permiten identificar varios subtipos con respuestas y pronósticos diferentes (ver introducción).

Como se puede observar, y a pesar de tratarse de un análisis exploratorio con muy pocas pacientes, un estudio IHQ básico es capaz de separar poblaciones con pronósticos muy diferentes. Por un lado, los tumores basales inmunoactivos (BLIA) y los tumores LAR alcanzan SG del 80%; por otro, los tumores basales inmunosuprimidos (BLIS) y los mesenquimales apenas llegan al 40% de supervivencia.

La respuesta a quimioterapia también es diferente, tal y como reflejan Masuda *et al.*²³⁴, en su reciente comunicación centrada en tumores triples negativos. En ella se analizan las RCP atendiendo a los diferentes subtipos establecidos por Lehmann *et al.*¹¹⁵. Globalmente, la tasa de RCP con un régimen de antraciclinas y taxanos fue del 28%, pero hubo una gran variabilidad entre los diferentes subtipos: el BL1 consiguió las RCP más altas: 52%; en cambio, la población BL2 y LAR apenas alcanzó el 10% de RCP (0% y 10%, respectivamente). Se observó que el fenotipo TN es predictor de RCP y la predicción de RCP es mejor que incluso con los subtipos intrínsecos definidos por la plataforma PAM50 (tumores basales frente no basales).

De hecho se podrían identificar dos poblaciones: una de ellas en las que la SG pudiera ir ligada a la RCP obtenida con QT (BLIA) y otra en la que también alcanza supervivencias muy llamativas pero no necesariamente ligada a la respuesta a QT. Esto último, lo ejemplifica especialmente el subgrupo LAR, en el que sólo una paciente responde y a pesar de ello alcanza supervivencias cercanas al 80%. Se comportaría de forma similar al fenotipo luminal (se obtienen pocas RCP con quimioterapia y a pesar de ello, las supervivencias a largo plazo son prolongadas). La positividad del RA en las diferentes series de tumores triples negativos es muy variable: del 6,6% al 75%; posiblemente, la principal razón de estas cifras tan discordantes sea la definición de la cifra a partir de la cual se considera positiva la tinción que varía del 1% al 25%²³⁵.

Las repercusiones terapéuticas que se derivan de esta clasificación son enormes, e incluso se pudiera obviar la quimioterapia en alguno de los subgrupos, uno de los bastiones incuestionables hasta este momento en la población triple negativa.

Recientemente se ha publicado un estudio fase II que ejemplifica cómo el bloqueo del RA puede ser beneficioso en este subtipo de cáncer de mama²³⁶. Se incluyen pacientes con tumores receptores estrogénicos negativos y con sobreexpresión del receptor androgénico (RA), que reciben bicalutamida (un antagonista del RA). Recientemente, también se han comunicado resultados con enzalutamida²³⁷ en pacientes con tumores TN y fenotipo LAR.

La incorporación de los platinos en la práctica clínica exige encontrar nichos o biomarcadores en subgrupos como la población TN y más concretamente si existen deficiencias en BRCA, para asumir las toxicidades añadidas.

Merece la pena mencionar las diferentes alternativas terapéuticas que se están desarrollando en los diferentes subtipos de los tumores triples negativos descritos por Lehmann¹¹⁵ (**Tabla 66**).

Tabla 66. Diferentes subtipos TN, vías alteradas y fármacos en desarrollo

Subtipo Molecular TN	% TN	RCP (%)	Vía alterada	Tratamiento
BL1	20	52	Respuesta daño DNA, proliferación	Cisplatino, Inhibidores PARP
BL2	12	0	P63, EGFR, MET	Inhibidores mTOR y factores de crecimiento
IM	17	30	Señalización inmune	Inmunomoduladores
M	21	31	EMT, Wtn, TGF- β 1, IGF1R, Notch, Proliferación	Inhibidores mTOR, SRC, factores crecimiento
MSL	10	23	EMT, Wtn, TGF- β 1, MAPK, PI3K, PDGH	Inhibidores mTOR, PI3K, MEK y factores crecimiento
LAR	9	10	Señalización RA, ERBB4, FOXA1	Antagonistas RA Inhibidores PI3K
UNS	11	33	Respuesta daño DNA, proliferación	Cisplatino, Inhibidores PARP

Hasta que se produzca la incorporación de los perfiles génicos (limitados en este momento por precio y por la tecnología, que no está incorporada en todos los centros), este tipo de análisis proteico permite separar y clarificar este cajón de sastre que hasta ahora ha sido el fenotipo triple negativo y recomendamos la determinación de al menos RA, p53, Ck5/6, PD-L1 y CTLA-4 para su validación.

Aunque sólo se han incluido 21 pacientes con fenotipo triple negativo, el análisis detenido de esta población ha permitido emitir una hipótesis de trabajo

que pudiera tener repercusión terapéutica y servirá de punto de partida para futuros proyectos:

- Evaluación de los subtipos linfocitarios en el residuo tumoral
- Selección de tumores quimirrefractarios y con evolución fatal y en el otro extremo tumores especialmente quimiosensibles que no han recaído. El análisis molecular de estas dos situaciones, sin duda podría identificar alteraciones moleculares, que permitan un tratamiento dirigido.

6.10. Análisis específico de los TILs

6.10.1. Análisis de los TILs en la serie

La mayoría de los autores consideran los CM con predominio linfocítico (LPBC) aquellos con más de un 50% de infiltrado linfocitario, aunque hay algún trabajo cuyo punto de corte lo sitúan en el 60%²³⁸. En nuestro caso, se considera LPBC por encima del 50%.

Según las series, los porcentajes de tumores con LPBC son variables entre 4 y el 10% (**tabla 68**). En una de las cohortes con mayor número de mujeres con CM e invasión linfática, el porcentaje promedio de TIL estromal fue del 10% en las muestras con RE positivo y HER2 negativo, entre el 15% y el 20% en tumores HER2 positivos y entre el 20% y el 28,3% en la población TN²³⁹⁻²⁴¹. En nuestra serie casi el 25% de los tumores mostraban LPBC, y aunque son valores por encima de lo descrito, estas cifras pudieran deberse a que más de la mitad de los tumores incluidos son TN, luminales B HER2 y HER2, y que la presencia de infiltrado linfocitario es llamativamente alta en los tumores luminales B.

Por otra parte, en nuestra serie, los tumores que tienen LPBC, respecto a los que no tienen predominio linfocitario, a su diagnóstico se presentan con un perfil más “agresivo”. Son proliferativos (Ki-67 \geq 20% en un 88% frente al 64,6%), debutan con etapas más avanzadas (etapa III un 32% si LPBC y sólo el 15,2% si no LPBC), son pobremente diferenciados (64% de GN1 frente el 15,2%) y por último, frecuentemente no presentan expresión de RE (60% frente el 32%). Se correlaciona con la biología tumoral de los CMTN, HER2 o incluso luminales B, con mucha proliferación.

6.10.2. TILs y respuesta completa anatomo-patológica

En nuestra serie, la presencia de LPBC es un predictor de RCP ya que un 40% de los tumores con LPBC alcanza RCP frente a sólo un 10% de los que no lo tienen. Este hecho es más marcado en la población TN, alcanzando unas cifras del 55,6%. Curiosamente, el fenotipo luminal B es el segundo en RCP dependientes de LPBC (37,5%) y en cambio en la población HER2 no parece que las RCP vayan ligadas a este predominio linfocitario. Las pocas pacientes incluidas en cada subgrupo no permiten establecer conclusiones rotundas, pero permiten confirmar lo ya descrito o establecer nuevas hipótesis.

Esta correlación entre LPBC y RCP y concretamente en la población TN y HER2 se confirma en la bibliografía, no así en los tumores luminales B. Así, recientemente, se publica un metanálisis en el que si la biopsia pre-tratamiento está enriquecida en TILs se correlaciona con mejores RCP tras QTNA (OR=3.93, IC 95% 3.26-4.73), especialmente en TN (OR=2.49, IC 95% 1.16-3.83)¹⁸⁴. Otros trabajos comunican como en los tumores TN y HER2, la presencia de TILs predice la obtención de RCP tras QTNA, no sólo con regímenes basados en antraciclinas y taxanos^{242,243} sino también con la introducción de sales de platino²³⁸. Son los resultados del estudio GEPARSIXTO, donde se alcanzan una tasa de RCP del 74% en los tumores TN con LPBC frente al 46% en los tumores que no tienen LPBC, con la incorporación de carboplatino a la combinación de doxorubicina liposomal y docetaxel.

Por otra parte, se analiza de forma conjunta las RCP y las respuestas anatomo-patológicas “casi” completas, en relación con LPBC. Este análisis podría ser interesante por la implicación que pudiera tener el sistema inmune en la consecución de respuestas anatomo-patológicas brillantes e incluso en la erradicación de la enfermedad mínima residual. Y los resultados, aunque son pocas pacientes son llamativos:

- La tasa de respuestas anatómo-patológicas, incorporando la enfermedad microscópica residual, en los tumores LPBC es del 68%.
- La tasa de respuestas, al añadir RCB I, no se modifica en la población TN; en cambio en la población luminal B con LPBC se alcanzan un 87,5% de respuestas brillantes (7 tumores alcanzan RCB 0 ó I de los 8 que tiene predominio linfocitario tumoral).

La participación del sistema inmune en el logro de las respuestas anatómo-patológicas y con los resultados a largo plazo, en conjunción con los tratamientos utilizados es una realidad. El CM es un tumor poco inmunogénico y la QT puede exacerbar la respuesta inmune antitumoral por varios mecanismos. Por un lado disminuye la carga tumoral y modifica el microambiente y por otro, suprime las células del sistema inmune que frenan la respuesta antitumoral, como por ejemplo las células T reguladoras (Tregs). Además, genera mutaciones somáticas que producen neo-antígenos que estimulan el sistema inmune²⁴⁴. De esta manera se consigue una respuesta prolongada frente al residuo tumoral²⁴⁵. El mecanismo inmunogénico de algunos quimioterápicos se describen en la **tabla 67**.

Tabla 67. Mecanismos inmunológicos de la QT (tomado de Dushyanthen et al.²⁴⁵ modificada)

Quimioterápico	Mec. Acción	Efecto inmunológico
Gemcitabina	Análogo nucleósido	Reducción número MDSCs (*)
Ciclofosfamida	Alquilante	Depleción Tregs; reducción MDCSs (*); activación células dendríticas
Paclitaxel	Antimicrotúbulos	Reducción MDCSs (*); reducción Tregs
Docetaxel	Antimicrotúbulos	Reducción MDCSs (*)
Oxaliplatino	Aductos DNA	Inducción muerte de células inmunogénicas
Cisplatino	Aductos DNA	Induce acúmulo células dendríticas
Antraciclinas	Múltiples	Inducción muerte de células inmunogénicas; eliminación de MDCSs (*)

(*) MDCSs (*myeloid-derived suppressor cells*, células supresoras derivadas de la línea mieloide)

6.10.3. TILs y supervivencia

La presencia de TILs se ha relacionado con SG en CM. En un análisis de más de 2000 pacientes incluidas en un ensayo en adyuvancia (BIG 02-08), se demostró que la presencia de TIL, tanto en el estroma como intratumoral se asociaba con un incremento en la SLE y la SG concretamente en la población TN. Entre las 256 pacientes que tenían LPBC la SG era del 92% frente al 71% cuando no existía ese predominio linfocitario²³⁹. Además, se ha comunicado que la presencia de LPBC, se asocia con mejor SG no sólo en la población TN sino también en la población HER2²⁴⁶.

¿Por qué en nuestro trabajo, no se encuentran diferencias en SG en la población global, en las pacientes cuyos tumores presentan LPBC?

Los tumores TN y HER2 sólo representan el 30,9% de la serie, y quizás, esta poca representación repercuta directamente en los resultados alcanzados a largo plazo. La presencia de LPBC, en cambio, sí se comporta como un factor predictor de RCP, gracias a la población TN, HER2 y luminal B. Acaso, este último subtipo, sea la razón de que no se encuentren diferencias en SG. De hecho, en CM localizado y concretamente, en los tumores hormono-dependientes no se ha descrito una asociación de TIL y supervivencia. Si bien es cierto, que la expresión de genes inmuno-relacionados se ha asociado con mejor pronóstico y más probabilidad de RCP^{247,248}.

Por otra parte, la presencia en el residuo tumoral de diferentes subpoblaciones linfocitarias, como CD8, FOXP3, Treg, entre otras, pueden motivar la discordancia entre las RCP y la SG. La presencia en la biopsia diagnóstica de un infiltrado predominante de CD4, CD68 y CD20 y bajo de CD8 predice la RCP. La presencia de alguna de estas subpoblaciones en el residuo tumoral post-QT paradójicamente (por ejemplo CD68, un marcador macrofágico) confiere peor SLE y SG¹⁹⁷. Contrariamente, otros autores, describen que la

presencia de TIL en el residuo tumoral confiere mejor pronóstico, pero sólo en la población TN²⁴⁹.

6.10.4. Análisis de TILs en la población triple negativa

EL infiltrado linfocitario tumoral es especialmente relevante en la población triple negativa (TN) y de hecho se está consolidando como un factor asociado a respuesta a QT y a mejor SLE y SG¹¹⁴. Incluso, en tumores TN no tratados con QT, la presencia de TILs se relaciona con mejor supervivencia. Por estas razones, en los últimos años se han potenciado los esfuerzos para estandarizar la metodología de su evaluación¹⁴⁵.

Los principales estudios en adyuvancia y neoadyuvancias en CMTN que incluyen el análisis de TIL por H-E, se resumen en la **tabla 68**. En todos ellos definen los LPBC como $\geq 50\%$, salvo en el estudio de Denkert *et al.* ($\geq 60\%$)

En el estudio BIG 02-98, en las 256 pacientes con CMTN de las 2009 incluidas, TILs se relacionaba con SG. Por cada 10% de incremento en TILs, había un 17% de reducción en riesgo de recaída y un 27% de reducción de muerte. Esto es concordante con el análisis retrospectivo de 2 estudios (ECOG 2197 and ECOG 1199²⁵⁰) de CM en adyuvancia. Por cada 10% de incremento en TIL se reducen el riesgo de recaída y muerte, en un 14% y 18%, respectivamente.

Tabla 68. Principales estudios con pacientes con CM y fenotipo TN que reciben QT adyuvante y neoadyuvante; determinación por HE de TILs²⁵¹

Estudio	TN, n	Tipo QT	LPBC (%)	Seguimiento
BIG 02-98²⁴¹	256	A → CMF AT → CMF A → T → CMF	10.6	96 mese
ECOG 2197 y ECOG 1199²⁵⁰	481	AC ó AT AC → Pac AC → Doc	4.4	127 meses
FinHER²⁵²	134	Doc → FEC V → FEC	11.6	62 meses
Dieci MV²⁴⁶	199	A frente No QT	14.8	152.4 meses
Pruneri G²⁵³	897	CMF o AC-CMF	21,9	8,2 años
Denkert C²³⁸	314	AT + Bevacizumab ± Carboplatino	28,3	17 meses

A pesar de que toda la fuerza bibliográfica sugiere que la presencia de TIL en la biopsia al diagnóstico es un marcador de SG, esto no se ha constatado en nuestra serie. Sin embargo, la presencia de TIL en la pieza quirúrgica, sí identifica un pequeño subgrupo de pacientes con CMTN con residuo tumoral (n=3) en los que no se ha producido progresión de la enfermedad. Estos hallazgos son concordantes con un análisis retrospectivo en 278 pacientes con CM en los que analizan TIL en el tumor residual²⁴⁹. Dieci *et al.*, argumentan que la QT es capaz de inducir una respuesta inmune antitumoral, a través de la “muerte celular inmunogénica”. En su estudio demuestran como un TIL alto (≥ 60%) en la pieza quirúrgica es un factor pronóstico en los tumores TN. Además, esto es especialmente cierto en los tumores con elevada carga tumoral post-QT (tumores con residuo tumoral de más de 2 cm y/o afectación ganglionar).

Además se comienza a correlacionar TILs con otros marcadores inmunitarios (CD8, FOXP3, PD-L1) y su presencia, también predicen la RCP¹⁸⁴. Merece la pena también destacar la correlación de TILs y PD-L1 descrita recientemente^{128,254}. PD-1, un regulador negativo del sistema inmune, se expresa en las células T (CD8+ entre otras), y promueve la expresión de PD-L1 (ligando de PD-1) en las células tumorales. Cuando PD-L1 se une con PD-1, los linfocitos se inactivan²⁴⁵. En nuestra serie, no se ha constatado correlación de LPBC con la sobre-expresión de PD-L1, quizás motivado por el tamaño muestral. La importancia y la repercusión terapéutica de ciertos checkpoints como PD-L1 se describe en varios tumores, como melanoma y cáncer de pulmón, y más recientemente en CM y concretamente en tumores TN¹¹⁴. La expresión proteica medida por IHQ en CM varía del 15,8% al 30%^{232,255-257} según las series, ya que su determinación todavía no está estandarizada, porque todavía no se ha definido el mejor anticuerpo.

Conclusiones

7. Conclusiones

- 1) Nuestra serie es válida (por comparable) con otras, más numerosas. Nuestro esquema (carboplatino, doxorubicina y secuencialmente taxano) es moderadamente tóxico. En el futuro puede ser recomendable empezar con el taxano y concretamente con paclitaxel semanal.
- 2) Con este tratamiento preoperatorio se consiguen un 60% de cirugías conservadoras y una tasa de RCP del 17,3%. Con una mediana de seguimiento de 8,69 años, el 68,5% de las pacientes no han recaído y el 78,9% siguen vivas.
- 3) Las respuestas radiológicas son concordantes con las anatomo-patológicas especialmente en los subtipos HER2 y TN. Al comparar ambas, la estadificación tumoral pre y postratamiento confirma un *downstaging* en el tumor primario, pero no en los ganglios axilares. Se recomienda la evaluación ganglionar previa a la neoadyuvancia con BSGC.
- 4) Para evaluar la respuesta patológica, el método RCB es similar a otros. Sin embargo, después de una curva de aprendizaje, el RCB es un sólido factor pronóstico, independiente en el análisis multivariante, que hemos validado para un esquema con platino y además muy significativo a 10 años vista.
- 5) El grado nuclear, el índice proliferativo, p53 y la determinación de TIL, se confirman como factores predictores de RCP. Con sólo 4 variables histológicas determinadas en la biopsia tumoral, la capacidad predictiva de RCP alcanza un AUC de 0,90. Se recomienda su inclusión en los informes anatomo-patológicos al diagnóstico.
- 6) Se constata que pronostican la SG los siguientes factores: RCB, pT, pN, Ki-67 en biopsia, el GN de Black en la pieza y edad. A nuestro juicio, el RCB gana precisión añadiéndole una estimación del GN en el residuo tumoral.

Conclusiones

- 7) Los tumores triple negativos tienen una conducta paradójica, caracterizada por frecuente RCP, pero a la vez con mal pronóstico. No obstante, un algoritmo diagnóstico por IHQ es capaz de identificar perfiles con distinta quimiosensibilidad (BLIA mejor) y supervivencia (BLIA y LAR mejor). Recomendamos la determinación, al menos, de RA, CK5/6, p53, PDL-1 y CTLA-4. Este último, en concreto, cuando se determina en linfocitos emerge como un fuerte factor predictor y pronóstico.

- 8) El infiltrado linfocitario tumoral en la biopsia diagnóstica es un factor predictor de RCP, pero no de SG. Visto en la pieza quirúrgica, es un hallazgo favorable en el fenotipo luminal B con residuo mínimo. Asimismo identifica un subgrupo de excelente pronóstico dentro de la población TN.

Addendum: Las conclusiones precedentes conducen a varias líneas de investigación futura:

- Análisis molecular de dos situaciones extremas, por un lado los tumores quimiorrefractarios y deletéreos, por otro los tumores especialmente quimiosensibles y sin recaída a largo plazo.

- Estudio pormenorizado de las células tumorales y de componentes significativos del estroma. Determinación de las subpoblaciones linfocitarias funcionales (CD8, CD4, FOXP3, CD68...) en la enfermedad residual post-quimioterapia.

Índice de tablas y figuras

8. Índice de tablas y figuras

8.1. Índice de tablas

Tabla 1. Factores Pronósticos y Predictores del CM (pág. 6).

Tabla 2. Definición clínico y anatómo-patológico de subtipos tumorales¹⁷ (pág. 8).

Tabla 3. Características clínicas, morfológicas y moleculares del subtipo basal (modificado de Rastelli *et al.*³⁹) (pág. 11).

Tabla 4. Principales estudios con terapia anti-HER2 en neoadyuvancia (pág. 26).

Tabla 5. Principales estudios que incorporan bevacizumab en neoadyuvancia (pág. 27).

Tabla 6. Factores predictores de RCP⁸⁹ (pág. 29).

Tabla 7. RCP según subtipos tumorales (pág. 31).

Tabla 8. Respuestas clínica, radiológica y patológica con QTNA con cisplatino, doxorubicina y paclitaxel (pág. 38).

Tabla 9. Cuestiones teóricas de las proteínas seleccionadas en CMTN (pág. 43 y 44).

Tabla 10. Grado nuclear de Black¹⁶ (pág. 56).

Tabla 11. Cuestiones técnicas de la inmunohistoquímica (pág. 58).

Tabla 12. RE y RP: interpretación de la tinción (Leake R¹³², modificado) (pág. 59).

Tabla 13. Interpretación de las técnicas de IHQ realizadas en CMTN (pág. 65-67).

Tabla 14. Interpretación de técnicas de IHQ no vinculadas a ningún fenotipo (pág. 68-69).

Tabla 15. Clasificación de Miller y Payne¹⁰⁰ (pág. 77).

Tabla 16. Características epidemiológicas (pág. 84).

Tabla 17. Otras características clínicas de la serie (pág. 85).

Tabla 18. Estadificación de los tumores al diagnóstico (pág. 87).

- Tabla 19.** Características histológicas de la serie (pág. 88).
- Tabla 20.** Principales toxicidades hematológicas (pág. 90).
- Tabla 21.** Principales toxicidades extrahematológicas (pág. 91).
- Tabla 22.** Respuesta clínica y radiológica según criterios RECIST 1.1. (pág. 92).
- Tabla 23.** Respuesta radiológica según fenotipos tumorales (pág. 97).
- Tabla 24.** Respuesta anatomo-patológica según las diferentes clasificaciones (pág. 102-103).
- Tabla 25.** TNM antes y después de la QTNA (pág. 108).
- Tabla 26.** Respuesta patológica según RCB y fenotipos (pág. 111).
- Tabla 27.** Concordancia entre el tamaño por RM post-QT y el patológico (pág. 112).
- Tabla 28.** Respuesta radiológica y patológica según fenotipos (pág. 112).
- Tabla 29.** Resultados del análisis univariante de las variables que alcanzaron un nivel de significación de 0,25 o menor (pág. 114).
- Tabla 30.** Resultados del análisis multivariante de los factores predictores de RCP utilizando método “enter” (pág. 115).
- Tabla 31.** AUC (Curva ROC) con los factores predictores seleccionados por método “enter” e índice de Youden (pág. 115).
- Tabla 32.** Resultados del análisis multivariante de los factores predictores de RCP utilizando el modelo de selección automática de variables “hacia atrás condicional” (pág. 117).
- Tabla 33.** AUC (Curva ROC) con factores predictores seleccionados por el modelo de selección automática de variables “hacia atrás condicional” e índice de Youden (pág. 117).
- Tabla 34.** Resultados del análisis multivariante de los factores predictores de RCP, utilizando el modelo de selección automática de variables “hacia atrás condicional” y añadiendo un factor (p53) por criterio clínico (pág. 119).
- Tabla 35.** AUC (Curva ROC) con factores predictores seleccionados por el modelo de selección automática de variables “hacia atrás condicional” y añadiendo un factor (p53) por relevancia clínica e Índice de Youden (pág. 119).
- Tabla 36.** Tipo de hormonoterapia recibida (pág. 121).

Tabla 37. Porcentajes de invasión vascular, perineural y rotura capsular en la serie (pág. 122).

Tabla 38. Estadísticos descriptivos de los fenotipos tumorales para SLE (pág. 124).

Tabla 39. Estadísticos descriptivos de los fenotipos tumorales para SG (pág. 126).

Tabla 40. Resultados del análisis univariante de los factores pronósticos variables que alcanzaron un nivel de significación de 0,25 o menor (pág. 127-130).

Tabla 41. Resultados del análisis multivariante de los factores pronósticos utilizando el modelo de selección automática de variables “hacia atrás condicional” (pág. 131).

Tabla 42. Sistemas de evaluación de respuesta y sus correspondientes AUC (pág. 138).

Tabla 43. Características epidemiológicas de los tumores TN y del resto fenotipos (pág. 140).

Tabla 44. Características de las pacientes y de los tumores TN (pág. 142).

Tabla 45. Respuesta clínica y radiológica de los tumores TN (pág. 143).

Tabla 46. Características clínicas y anatómo-patológicas según LPBC (pág. 152).

Tabla 47. Distribución LPBC en biopsia según fenotipos (pág. 153).

Tabla 48. Distribución LPBC en pieza quirúrgica (post-QT) según fenotipos (pág. 153).

Tabla 49: Análisis de las respuestas anatómo-patológicas según LPBC (pág. 154).

Tabla 50. Tumores que alcanzan RCP: análisis según LPBC (pág. 155).

Tabla 51. Tumores que alcanzan RCB 0 y RCB I: análisis según LPBC (pág. 156).

Tabla 52. Características de los tumores en comparación con otra serie (pág. 163).

Tabla 53. Comparación de las toxicidades descritas con diferentes regímenes de quimioterapia (pág. 154).

Tabla 54. Tasa de cirugía conservadora en estudios con QTNA (pág. 168).

Tabla 55. Estudios en neoadyuvancia y RCP (pág. 172).

Tabla 56. Evaluación del “downstaging” ganglionar en los estudios con QTNA “clásicos” (pág. 173).

Tabla 57. Análisis de las RCP según la expresión de receptores hormonales (RH). Modificado de Kaufmann *et al.*¹⁷¹ (pág. 174).

Tabla 58. RCP según fenotipos (tomado de Cortazar *et al.*⁸⁸) (pág. 177).

Tabla 59. Mutaciones p53 según fenotipos tumorales (pág. 181).

Tabla 60. SG según diámetro tumoral y afectación ganglionar¹⁹⁸ (pág. 187).

Tabla 61. Comparación de las características epidemiológicas de varias series con tumores TN (pág. 194).

Tabla 62: Características de los tumores TN: comparativa con otras series (pág. 196).

Tabla 63. Principales estudios en CMTN con QTNA con antraciclinas y taxanos (pág. 198).

Tabla 64. Estudios fase II con platinos en monoterapia o combinación en tumores triples negativos. Modificado de von Minckwitz *et al.*²²⁰ (pág. 199).

Tabla 65. Principales estudios en neoadyuvancia con carboplatino y tasa RCP (tomada de Valsecchi²²⁷) (pág. 200).

Tabla 66: Diferentes subtipos TN, vías alteradas y fármacos en desarrollo (pág. 205).

Tabla 67. Mecanismos inmunológicos de la QT (tomado de Dushyanthen *et al.*²⁴⁵ modificada) (pág. 210).

Tabla 68. Principales estudios con pacientes con CM y fenotipo TN que reciben QT adyuvante y neoadyuvante; determinación por HE de TILs²⁵¹ (pág. 213).

8.2. Índice de figuras

Figura 1. Patrones de inmunohistoquímica en células normales y los distintos subtipos tumorales⁴⁰ (pág. 12).

Figura 2. Curvas de SLE (izquierda) y SG (derecha) de las pacientes tratadas con cisplatino, doxorubicina y secuencialmente paclitaxel (pág. 39).

Figura 3. Esquema de las proteínas seleccionadas y su posible correlación con los diferentes subtipos de tumores triples negativos establecidos según Lehmann *et al.*¹¹⁵ y Burstein *et al.*¹¹⁶ (pág. 45).

Figura 4. Imagen de mamografía (izquierda). Proyección oblicua mediolateral derecha en paciente con masa de contornos espiculados en el cuadrante superior. Imagen ecográfica (derecha) donde puede verse una masa hipoecogénica de contornos irregulares de características sospechosas de malignidad (pág. 54).

Figura 5. Imagen por RM. Reconstrucciones de la secuencia dinámica realizada tras la administración de contraste paramagnético donde apreciamos una masa de contornos espiculados en los cuadrantes inferiores de la mama izquierda con intenso realce (izquierda), visible en color rojo en la imagen de “realce máximo relativo” (centro) y con ausencia de captación en la secuencia obtenida al finalizar el tratamiento (derecha), característico de una respuesta radiológica completa (pág. 54).

Figura 6. Grado nuclear de Black: GN3 (izquierda); GN2 (central); GN1 (derecha) (pág. 56).

Figura 7. Tinción por IHQ del RE (izquierda) y RP (derecha) (pág. 59).

Figura 8. Ejemplos de tinción de HER2 por IHQ: HER2 +/+++ a la izquierda y HER+++ a la derecha (pág. 60).

Figura 9. Ejemplos de tinción por IHQ de Ki-67: A la izquierda, tinción de Ki-67 moderada en uno de los tumores a bajo aumento. En el centro, tumor de bajo índice proliferativo (Ki-67 bajo). A la derecha tumor con alto índice proliferativo (Ki-67 alto) (pág. 62).

Figura 10. Plan terapéutico del proyecto (pág. 73).

Figura 11. Ejemplos de diferentes densidades celulares en la pieza quirúrgica tras QTNA y su correlación con la guía propuesta en: <http://www3.mdanderson.org/app/medcalc/index.cfm?pagename=jsconvert3> (pág.76)

Figura 12. Histograma de edad al diagnóstico (pág. 83).

Figura 13. Diferentes tipos histológicos de la serie; A: Ductal; B: Lobulillar; C: Tipo sólido; D: Metaplásico con componente condroide (pág. 86).

Figura 14. Representación gráfica de los fenotipos (pág. 89).

Figura 15. Paciente con afectación extensa de la mama derecha, con un área de captación patológica de contraste mal definida en la secuencia dinámica del estudio con RM (A), que en la imagen obtenida de la sustracción, puede verse el vacío de señal del clip de marcaje y el engrosamiento de la piel de la mama por afectación de la misma (B). Después de recibir QTNA se consigue una respuesta completa al mismo, como puede verse en las imágenes hay ausencia de captación de contraste en el estudio dinámico (C) y en la sustracción desaparece tanto el realce de contraste como el edema cutáneo (D) (pág. 93).

Figura 16. RM realizada como parte de la estadificación local de una paciente diagnosticada de CM: proyección sagital (A) y axial (B) de la mama derecha con área de captación parcheada de características patológicas y que se corresponde con el área biopsiada percutáneamente. En las imágenes obtenidas en la RM realizada al finalizar el tratamiento se aprecia una captación parcheada de aspecto fragmentado: proyección sagital (C) y axial (D). Se interpreta como una respuesta parcial (pág. 94).

Figura 17. En este estudio realizado en la RM de 1.5 T, vemos dos proyecciones sagitales de la mama: antes del tratamiento, masa de contornos mal definidos en los cuadrantes superiores de la mama (izquierda) y resto de la lesión al finalizar los ciclos de QTNA (derecha) (pág. 95).

Figura 18. Estudio de RM en paciente con masa lobulada de 40 mm de diámetro mayor y contornos irregulares en el CSE de la mama derecha con adenopatía axilar patológica, ambas confirmadas con biopsia percutánea con guía ecográfica (A). Reconstrucción MIP de la secuencia dinámica realizada

tras la administración de contraste en proyección sagital donde puede verse la lesión (B). Después de recibir la QTNA se realizó un control con RM y las imágenes ponen de manifiesto la estabilidad, con captación de contraste muy similar al estudio inicial tanto en la imagen del estudio dinámico (C) como en la reconstrucción MIP (D) (pág. 96).

Figura 19. Tipos de cirugía según diámetro tumoral (pág. 98).

Figura 20. Ejemplos de respuestas patológicas: necrosis y ausencia de células tumorales (A); hialinización y células tumorales (B); células tumorales aisladas (C); necrosis y macrófagos (D); necrosis y persistencia de grupos celulares (E); ausencia de células tumorales y presencia de células gigantes reactivas (F) (pág. 101).

Figura 21. Distintos ejemplos con persistencia de células aisladas tumorales en la pieza quirúrgica. Son tumores catalogados como RCB I (pág. 104).

Figura 22. Imágenes de tumores etiquetados como RCB II: persistencia de grupos celulares (densidad celular moderada) (pág. 105).

Figura 23. Persistencia tumoral con gran densidad celular del componente infiltrante en la pieza quirúrgica (tumores con RCB III) (pág. 105).

Figura 24. Ejemplos de componente in situ, su densidad celular también se valora en el RCB (pág. 106).

Figura 25. Afectación tumoral ganglionar. A la derecha: tinción IHQ con Citoqueratina para comprobar la persistencia tumoral microscópica (pág. 106).

Figura 26. Tamaño (T) antes y después de la QTNA (pág. 109).

Figura 27. Ganglios axilares (N) antes y después de la QTNA (pág. 109).

Figura 28. Etapas antes y después de la quimioterapia. Se observa cómo mejora la estadificación tras la quimioterapia (pág. 110).

Figura 29. Curva ROC para factores predictores de RCP seleccionados utilizando el método “enter” (pág. 116).

Figura 30. Curvas ROC para factores predictores de RCP utilizando el modelo de selección automática de variables “hacia atrás condicional” (pág. 118).

Figura 31. Curvas ROC para factores predictores de RCP utilizando el modelo de selección automática de variables “hacia atrás condicional” y añadiendo un factor seleccionado por relevancia clínica (pág.120).

Figura 32. Ejemplos de permeación vascular (pág. 132).

Figura 33. Curva de supervivencia libre de enfermedad (pág. 133).

Figura 34. Diagrama de barras según fenotipo y supervivencia libre de enfermedad (pág. 124).

Figura 35. Curva de supervivencia global (pág. 125).

Figura 36. Histograma, representa la frecuencia de los eventos a lo largo del tiempo (pág. 126).

Figura 37. SG según RCP (RCB 0) (p 0,069) (pág. 132).

Figura 38. SG según respuestas anatómo-patológicas RCB 0 - RCB I (p 0,024) (pág. 133).

Figura 39. SG según RCB (p 0,030) (pág. 133).

Figura 40. SG según fenotipo (p 0,006) (pág. 134).

Figura 41. SG y edad (p 0,045) (pág. 134).

Figura 42. SG y grado nuclear en pieza (p 0,008) (pág. 135).

Figura 43. SG y RE (p 0,006) (pág. 135).

Figura 44. SG y HER2 (p 0,941) (pág. 136).

Figura 45. Curvas ROC para los diferentes sistemas de evaluación de respuesta anatómo-patológica (pág. 137).

Figura 46. Tumor metaplásico con diferenciación condroide (pág. 141).

Figura 47. RCP en CMTN en función la expresión proteica y otras características histológicas (pág. 145).

Figura 48. Histograma en función de los fenotipos y la supervivencia (pág. 146).

Figura 49. Curva de SG en CMTN (pág. 147).

Figura 50. Curva de SG en función de RCB en CMTN (pág. 147).

Figura 51. Exitus en función de la expresión proteica y TIL (pág. 148).

Figura 52. Respuesta anatómo-patológica en función del RCB de los fenotipos TN (pág. 150).

Figura 53. SG en función de los fenotipos TN (pág. 150).

Figura 54. TILs: A: Sin infiltrado linfocitario; B y C: situaciones intermedias; D: Predominio linfocitario (LPBC) (pág. 151).

Figura 55. Representación gráfica de las RCP (RCB 0) según LPBC (pág. 155).

Figura 56. Representación gráfica de las RCP (RCB 0) y las “casi completas” (RCB I) según LPBC (pág. 156).

Figura 57. SG en función de la presencia de LPBC en biopsia (izquierda) o pieza (derecha) (pág. 157).

Figura 58. SG en la población TN en función de la presencia de LPBC en pieza quirúrgica (p 0,071) (pág. 158).

Figura 59. Tasa de RCP obtenida en población HER2 tratada con QTNA y terapia anti-HER2 (pág. 176).

Anexos

9. Anexos

- **Anexo 1.** Gradación histológica de los CM infiltrantes, según Elston y Ellis¹⁵
- **Anexo 2.** TNM clínico y patológico
- **Anexo 3.** Clasificación por etapas
- **Anexo 4.** Morfología, definiciones y relevancia biológica y diagnóstica de los diferentes infiltrados inmunitarios en CM según Salgado al¹⁴⁵
- **Anexo 5a y 5b.** Cuestiones técnicas del RCB
- **Anexo 6.** Análisis univariante de factores predictores de RCP
- **Anexo 7.** Análisis univariante de factores pronósticos

Anexo 1. Gradación histológica de los CM infiltrantes, según Elston y Ellis¹⁵

Componentes	Puntuación
Túbulos	
- >75% del tumor formado de túbulos	1 punto
- 10-75% del tumor formado de túbulos	2 puntos
- <10% del tumor formado de túbulos	3 puntos
Grado Nuclear	
- Núcleos pequeños y uniformes	1 punto
- Variación moderada de los núcleos en diámetro y forma	2 puntos
- Pleomorfismo nuclear marcado	3 puntos
Índice mitótico	1-3 puntos
Grado histológico	Puntuación total
- 1 (bien diferenciado)	3-5
- 2 (moderadamente diferenciado)	6-7
- 3 (pobremente diferenciado)	8-9

Anexo 2. TNM clínico y TNM patológico**Diámetro tumoral (T y pT)**

TX → Tumor primario no puede ser evaluado

T0 → Sin evidencia de tumor primario

Tis → Carcinoma in situ

T1 → Tumor \leq 20 mm

- **T1mic**: tumor \leq 1 mm en su diámetro mayor
- **T1a**: tumor $>$ 1 mm pero \leq 5 mm en su diámetro mayor
- **T1b**: tumor $>$ 5 mm pero \leq 10 mm en su diámetro mayor
- **T1c**: tumor $>$ 10 mm pero \leq 20 mm en su diámetro mayor

T2 → Tumor $>$ 20 mm pero \leq 50 mm en su diámetro mayor

T3 → Tumor $>$ 50 mm

T4 → Tumor de cualquier diámetro con extensión a la pared torácica y/o a la piel (ulceración o satelitosis). No se incluye como T4 la afectación exclusiva de la dermis

- **T4a**: extensión a la pared torácica (no se incluye la invasión o adherencia al músculo pectoral)
- **T4**: ulceración y/o satelitosis y/o edema de la piel (se incluye piel de naranja)
- **T4c**: T4a y T4b
- **T4d**: carcinoma inflamatorio

Anexo 2. TNM clínico y TNM patológico (continúa)

Ganglios (N)

NX → ganglios regionales no pueden ser evaluados

N0 → Sin metástasis en ganglios linfáticos regionales.

N1 → Metástasis ipsilaterales axilares no adheridas, niveles I y II

N2 → Metástasis ipsilaterales axilares fijas niveles I y II o en mamaria interna (detectado clínicamente) sin afectación axilar

- **N2a**: Metástasis ipsilaterales axilares fijas niveles I y II

- **N2b**: Metástasis en mamaria interna (detectado clínicamente) sin afectación axilar

N3 → Metástasis ipsilaterales infraclaviculares o supraclaviculares o en mamaria interna (detectado clínicamente) con afectación axilar

- **N3a** → Metástasis ipsilaterales infraclaviculares

- **N3b** → Metástasis en mamaria interna (detectado clínicamente) con afectación axilar

- **N3c** → Metástasis ipsilaterales supraclaviculares

Anexo 2. TNM clínico y TNM patológico (continúa)

Ganglios (pN)

pNx → No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales

pN0 → Sin evidencia histológica de metástasis en ganglios linfáticos regionales

- **pN0 (i-)**: Sin evidencia histológica e inmunohistoquímica (IHQ)
- **pN0 (i+)**: Presencia de células tumorales $\leq 0,2$ mm mediante HE o IHQ
- **pN0 (mol-)**: Ausencia histológica y molecular de metástasis
- **pN0 (mol+)**: Ausencia histológica e IHC negativa con hallazgos moleculares positivos

pN1 → Metástasis a lo sumo en 3 ganglios axilares

- **pN1mic**: Micrometástasis ($> 0,2$ mm y/o más de 200 células, pero $< 2,0$ mm)
- **pN1a**: Metástasis en 1-3 ganglios axilares y al menos una de ellas > 2 mm
- **pN1b**: Metástasis en ganglios mamaros internos con afectación del ganglio centinela sin detección clínica
- **pN1c**: Metástasis en 1-3 ganglios axilares y mamaros internos con afectación del ganglio centinela sin detección clínica

pN2 → Metas. en 4-9 ganglios axilares o afectación mamaria interna clínicamente

- **pN2a**: Metástasis en 4-9 ganglios axilares
- **pN2b**: Metástasis en ganglios linfáticos de mamaria interna detectados clínicamente sin afectación axilar

pN3 → > 10 ganglios axilares o infraclaviculares o mamaria interna

- **pN3a**: Metástasis en ≥ 10 ganglios axilares o infraclaviculares
- **pN3b**: Metástasis > 3 ganglios axilares y mamaria interna detectados clínicamente, o > 3 ganglios axilares o afectación cadena mamaria interna

pN3c → Metástasis linfática supraclavicular ipsilateral

Metástasis (M)

M0 → Sin evidencia clínica o radiológica de metástasis a distancia

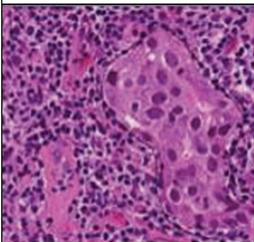
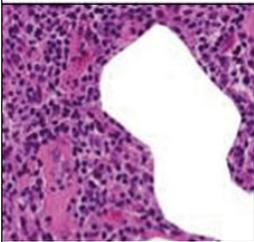
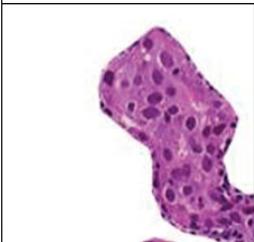
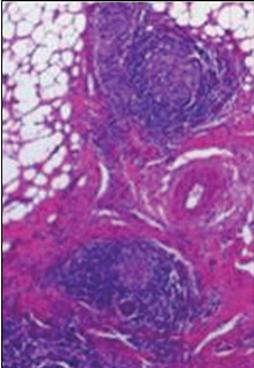
M1 → Metástasis a distancia

ANEXO 3. Clasificación por Etapas

Etapa	T	N	M
Etapa 0	Tis	N0	M0
Etapa IA	T1	N0	M0
Etapa IB	T0	N1mic*	M0
	T1	N1mic	
Etapa IIA	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	
Etapa IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	
Etapa IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	
	T2	N2	
	T3	N1	
	T3	N2	
Etapa IIIB	T4	N0	M0
	T4	N1	
	T4	N2	
Etapa IIIC	Cualquier T	N3	M0
Etapa IV	Cualquier T	Cualquier N	M1

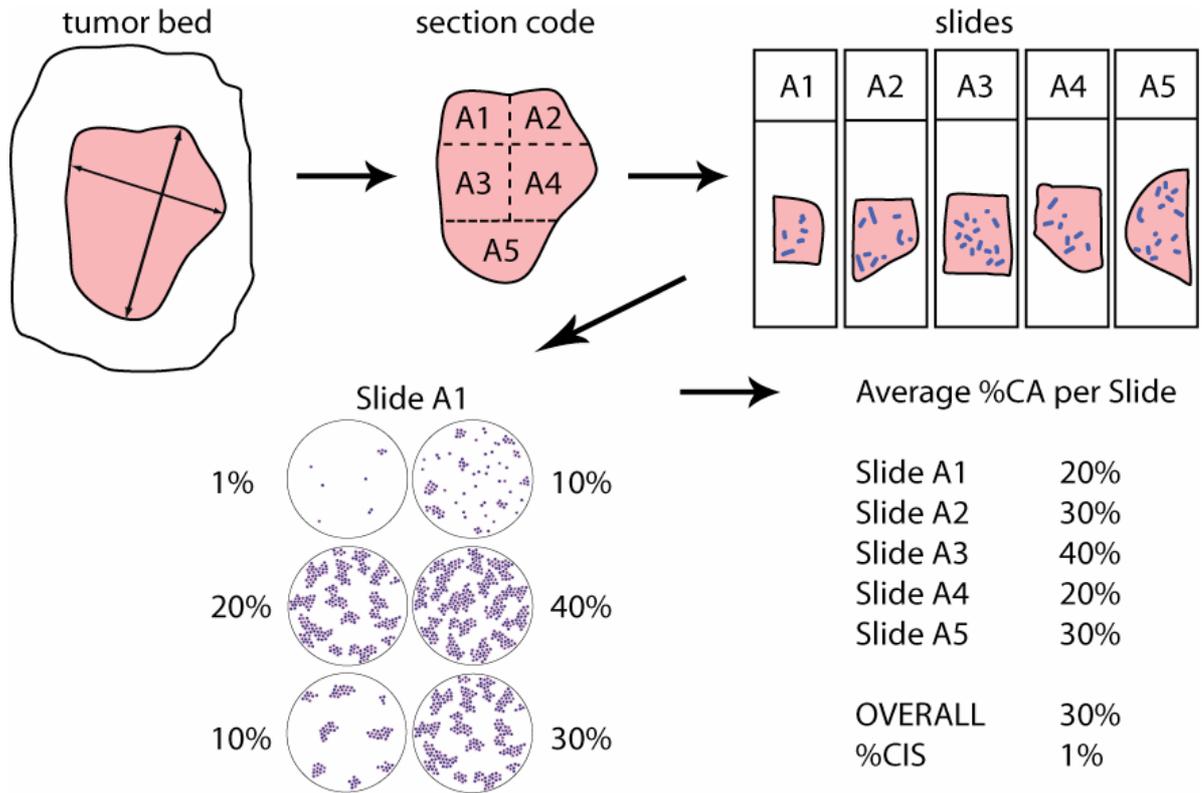
* Designa focos tumorales de diámetro < 0,2 mm

ANEXO 4. Morfología, definiciones y relevancia biológica y diagnóstica de los diferentes infiltrados inmunitarios en CM según Salgado *et al.*¹⁴⁵

Morphology	Definition and biological relevance	Diagnostic relevance
Lymphocyte-predominant breast cancer (LPBC)		
	Working category to describe tumors with "more lymphocytes than tumor cells".	Definitions vary across studies with stromal TILs of 50–60% used as a threshold. LPBC can be used for predefined subgroup analyses and for description of tumors with a particularly high immune infiltrate, however, keep in mind that TILs are a continuous parameter and the threshold for LPBC is still arbitrary.
Stromal TILs		
	Indicator of increased accumulation of immune-cells in tumor tissue	Stromal TILs have been shown to be predictive for increased response to neoadjuvant chemotherapy as well as improved outcome after adjuvant chemotherapy. Based on current data, this parameter is the best parameter for characterization of TILs.
Intratumoral TILs		
	TILs with direct cell-cell contact with carcinoma cells, might be an indicator of direct cell-based anti-tumor effects.	Several studies have shown that intratumoral TILs are more difficult to evaluate and do not provide additional predictive/prognostic information compared to stromal TILs.
TILs at the invasive margin		
The localization of TILs at the invasive edge is included in the evaluation approach presented in this guideline.		For breast cancer there are no studies with a separate evaluation of TILs at the invasive edge. For practical purposes, the reliable evaluation of the invasive edge might be difficult when using core biopsies in the neoadjuvant setting.
Tertiary lymphoid structures (TLS)		
	Typically localized in the surrounding area of the tumor, TLS might be localized in normal tissue directly adjacent to the tumor, consisting of a T cell zone next to a B cell follicle, often with germinal centers.	While these structures may be important for the biology of tumor-immune reactions, they are not yet optimized for non-research based assessments. The main problem is that TLS have a spatial heterogeneity and are principally localized in areas surrounding the tumor. They might not be in the plane of the tissue section that is being evaluated, in particular when using core biopsies. Furthermore, it might be difficult to distinguish lymphoid aggregates from true TLS, in particular when the germinal center is not in the plane of the section.

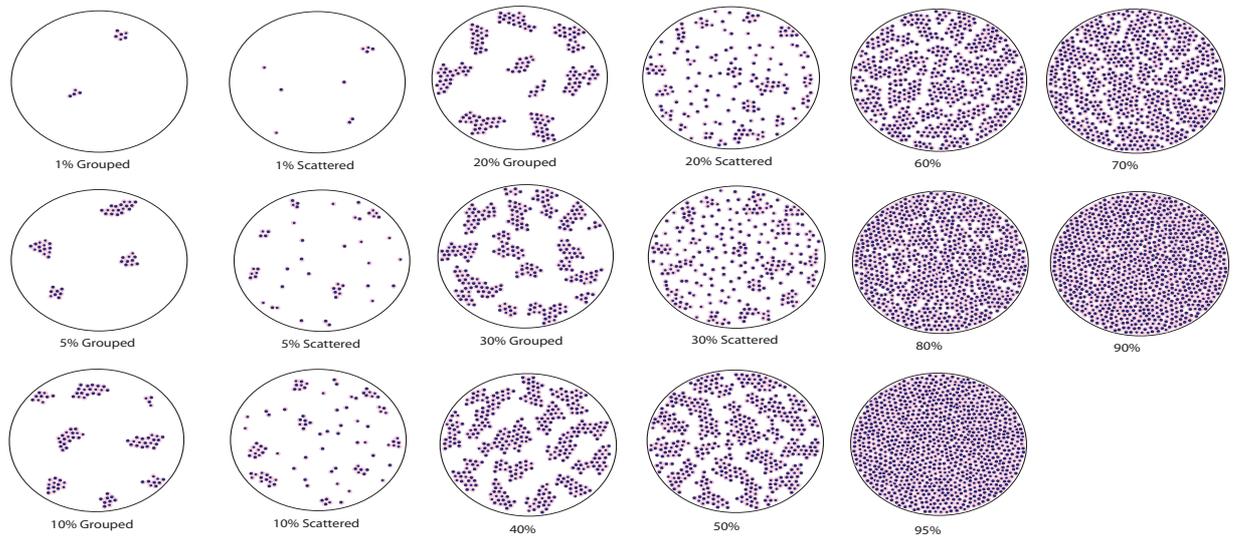
ANEXO 5a. Cuestiones técnicas del RCB

([http://www3.mdanderson.org/app/medcalc/index.cfm?pagename=jsconve
rt3](http://www3.mdanderson.org/app/medcalc/index.cfm?pagename=jsconve
rt3))



ANEXO 5b. Cuestiones técnicas del RCB: Porcentaje de celularidad tumoral

(<http://www3.mdanderson.org/app/medcalc/index.cfm?pagename=jsconve rt3>)



ANEXO 6. Análisis univariante de factores predictores de RCP

Factores Epidemiológicos	p	Odds Ratio	IC (95%)
Edad (años)	0,899	1,003	0,960-1,048
Grupos de edad			
- < 35 años	0,648	-	-
- 36-50 años	0,365	2,300	0,379-13,963
- > 50 años	0,529	1,778	0,296-10,671
Menarquia	0,833	0,964	0,683-1,360
Menopausia	0,439	0,731	0,331-1,616
Gestaciones			
- Nuligesta	0,096	-	-
- 1-2	0,105	0,176	0,022-1,441
- > 2	0,595	0,529	0,051-5,513
Lactancia			
- no	0,207	-	-
- 1-4 meses	0,033	0,091	0,010-0,820
- 4-8 meses	0,128	0,136	0,010-1,772
- 8-12 meses	0,999	73430674,7*	0,000-
Anovulatorios	0,874	1,096	0,354-3,389
Terapia hormonal sustitutiva	0,970	0,958	0,101-9,126
Tabaco	0,895	1,071	0,385-2,981
Alcohol	0,362	0,514	0,123-2,150
Lesiones mamarias previas	0,829	1,271	0,144-11,209
Diabetes Mellitus	0,193	0,290	0,045-1,867
Hipertensión arterial	0,587	1,545	0,321-7,443
Hipercolesterolemia	0,240	0,463	0,128-1,671
Osteoporosis	0,193	3,451	0,536-22,235
Antecedentes familiares	0,147	2,101	0,771-5,727

* Estimación no valorable

ANEXO 6. Análisis univariante de factores predictores de RCP (continúa)

Factores Epidemiológicos	p	Odds Ratio	IC (95%)
IMC (kg/m²)	0,606	1,312	0,4675-3,687
IMC			
- Normal	0,830	-	-
- Sobrepeso	0,545	1,429	0,451-4,528
- Obesidad	0,830	1,150	0,322-4,109
Relacionados con Tratamiento	p	Odds ratio	IC,95%
Tipo de QT	0,400	0,512	0,108-2,430
Reducciones dosis	0,297	0,589	0,218-1,591
Retrasos	0,504	0,711	0,262-1,932
Reducciones y retrasos	0,321	0,571	0,189-1,725
Suspensión QT	0,682	0,789	0,253-2,455
Plaquetopenia	0,181	4,135	0,516-33,150
Anemia	0,362	1,945	0,465-8,135
Neutropenia	0,436	1,538	0,521-4,545
Fiebre neutropénica	0,712	1,500	0,174-12,958
Emesis	0,177	2,071	0,720-5,953
Astenia	0,922	1,051	0,386-2,863
Mucositis	0,569	1,345	0,485-3,728
Neurotoxicidad	0,877	0,837	0,088-7,939
EPO	0,098	5,739	0,724-45,484
G-CSF	0,216	0,498	0,165-1,501

ANEXO 6. Análisis univariante de factores predictores de RCP (continúa)

Relacionados con el tumor	P	Odds ratio	IC, 95%
Síntoma debut			
- Screening	0,432	-	-
- Tumor	0,904	1,091	0,265-4,486
- Otros	0,294	2,545	0,444-14,585
Diámetro			
- T1-T2	0,915	-	-
- T3	0,677	1,333	0,345-5,156
- T4	0,899	1,111	0,219-5,642
Afectación ganglionar			
- N0	0,298	-	-
- N1	0,377	1,662	0,539-5,126
- N2-N3	0,273	0,346	0,052-2,305
Etapas (II frente III)	0,603	0,739	0,236-2,309
Histología			
- Ductal	0,259	-	-
- Otros	0,100	0,355	0,103-1,220
- Lobulillar	0,999	318544335*	0,000-
Grado nuclear biopsia			
- GN1	0,013	-	-
- GN2	0,003	5,238	1,741-15,759
- GN3	0,999	923128482*	0,000-
Presencia de CIS	0,156	2,091	0,754-5,795
RE	0,133	2,151	0,792-5,843
RP	0,103	2,305	0,844-6,297
HER2	0,572	0,726	0,239-2,205
Ki-67	0,025	10,607	1,353-83,148

* Estimación no valorable

ANEXO 6. Análisis univariante de factores predictores de RCP (continúa)

Relacionados con el tumor	P	Odds ratio	IC, 95%
Fenotipo			
- Triple Negativo	0,402		
- Luminal A	0,998	646189937*	0,000-
- Luminal B	0,592	1,400	0,409-4,791
- Luminal B HER2	0,060	8,400	0,914-77,208
- HER2	0,891	0,900	0,199-4,079
Catepsina D	0,315	1,790	0,575-5,570
E-Caderina	0,999	397655346*	0,000-
p53	0,325	1,684	0,597-4,748
Bcl-2	0,806	1,159	0,357-3,760
TIL biopsia (LPBC)	0,001	5,917	2,002-17,448
Multicentricidad	0,257	3,355	0,414-27,166
Tipo cirugía	0,442	1,513	0,527-4,342

* Estimación no valorable

ANEXO 7. Análisis Univariante de factores pronósticos

Factores Pronósticos	p	HR	IC
Edad franjas			
- > 50 años	0,179	-	-
- 36-50 años	0,113	2,851	0,780-10,417
- < 35 años	0,702	0,842	0,350-2,029
Menopausia	0,520	1,339	0,550-3,259
Anovulatorios	0,441	1,562	0,502-4,856
Terapia hormonal sustitutiva	0,980	1,026	0,136-7,726
IMC	0,886	1,067	0,439-2,595

ANEXO 7. Análisis Univariante de factores pronósticos (continúa)

Factores Pronósticos	p	HR	IC (95%)
Histología			
- Ductal	0,360	-	-
- Otros	0,402	1,602	0,531-4,832
- Lobulillar	0,190	2,092	0,693-6,314
Diámetro			
- T1	0,067	-	-
- T2	0,045	2,593	1,020-6,596
- T3/T4	0,083	2,726	0,877-8,475
Afectación ganglionar			
- N0	0,562	-	-
- N1	0,904	1,056	0,437-2,552
- N2	0,157	2,940	0,661-13,073
- N3	0,982	0,000	0,000-
Etapa (II frente III)	0,057	2,303	0,975-5,439
RE	0,004	3,478	1,503-8,047
RP	0,016	2,807	1,212-6,499
HER2	0,563	1,281	0,554-2,961
Ki-67	0,091	2,541	0,862-7,483
Grado nuclear biopsia			
- Grado nuclear 3	0,979	-	-
- Grado nuclear 2	0,920	27790,356*	9,461E+090
- Grado nuclear 1	0,920	25665,933*	8,733E+090
Grado nuclear pieza	0,009	4,345	1,451-13,011
Fenotipo			
- Luminal A	0,036	-	-
- Luminal B	0,353	2,766	0,323-23,677
- Luminal B HER2	0,267	3,463	0,387-30,989
- HER2	0,097	6,398	0,714-57,311-
- TN	0,024	10,839	1,369-85,824
TIL biopsia	0,906	1,062	0,392-2,880
TIL pieza	0,841	0,882	0,260-2,998

* Estimación no valorable

ANEXO 7. Análisis Univariante de factores pronósticos (continúa)

Toxicidades y Cumplimiento	p	HR	IC (95%)
Reducción dosis	0,968	1,017	0,446-2,320
Retraso	0,647	1,213	0,532-2,767
Reducción y retraso	0,588	1,278	0,526-3,108
Anemia			
- normal	0,251	-	-
- grado 1	0,482	2,079	0,270-15,995
- grado 2	0,287	3,072	0,389-24,248
- grado 4	0,077	12,342	0,758-200,906
Fiebre Neutropénica	0,102	2,765	0,818-9,351
Eritropoyetina	0,264	1,660	0,683-4,039

ANEXO 7. Análisis Univariante de factores pronósticos (continúa)

	p	HR	IC (95%)
Respuesta Radiológica			
- Completa	0,097	-	-
- Parcial	0,063	4,011	0,927-17,364
- No respuesta	0,033	6,345	1,161-34,683
RCP	0,192	2,629	0,616-11,216
TRR			
- pCR	0,266	-	-
- SRR	0,688	0,764	0,205-2,846
- WRR	0,307	1,849	0,569-6,007
- Progresión	0,235	2,481	0,555-11,097
RCB			
- pCR	0,060	-	-
- I	0,386	2,720	0,283-26,147
- II	0,165	4,296	0,550-33,561
- III	0,030	10,139	1,246-82,484
Miller primario			
- 1	0,381	-	-
- 2	0,155	2,969	0,664-13,286
- 3	0,589	1,403	0,410-4,794
- 4	0,325	1,854	0,542-6,335
- 5	0,529	0,580	0,106-3,166
Miller ganglio			
- sin metas	0,082	-	-
- metas sin cambios	0,689	0,725	0,151-3,492
- metas y cambios	0,047	2,577	1,014-6,550
- sin metas y cambios	0,562	0,538	0,066-4,372

ANEXO 7. Análisis Univariante de factores pronósticos (continúa)

	p	HR	IC (95%)
pT			
- pT0	0,031	-	-
- pT1	0,968	1,024	0,326-3,216
- pT2	0,237	2,210	0,593-8,234
- pT3	0,014	8,596	1,551-47,632
pN			
- pN0	0,022	-	-
- pN1	0,717	1,206	0,437-3,327
- pN2	0,330	1,935	0,513-7,301
- PN3	0,003	6,270	1,863-21,100
Etapa (ypT ypN)			
- Etapa 0	0,124	-	-
- Etapa I	0,170	4,331	0,533-35,200
- Etapa II	0,224	3,671	0,452-29,848
- Etapa II	0,040	8,980	1,103-73,102
Rotura capsular	0,098	2,121	0,871-5,164
Invasión vascular	0,077	2,448	0,907-6,608
Multicentricidad	0,262	1,766	0,654-4,769
Márgenes	0,815	1,189	0,279-5,075
Radioterapia	0,007	3,429	1,402-8,372
Trastuzumab	0,789	1,129	0,464-2,749
Hormonoterapia	0,001	4,064	1,787-9,241
Tipo Hormonoterapia			
- Inhibidor aromatasa	0,148	-	-
- TAM	0,972	0,975	0,244-3,906
- TAM y análogo	0,085	3,752	0,831-16,936
Segundo primario	0,333	0,043	0,000-25,043

Bibliografía

10. Bibliografía

1. Sánchez MJ, Payer T, De Angelis R, Larrañaga N, Capocaccia R, Martínez C. Cancer incidence and mortality in Spain: estimates and projections for the period 1981-2012. *Ann Oncol* 2010; 21:iii30-6.
2. Álvaro-Meca A, Debon A, Gil Prieto R, Gil de Miguel A. Breast cancer mortality in Spain: Has it really declined for all age groups? *Public Health* 2012;126:891-5.
3. Cabanes A, Vidal E, Aragonés N, Pérez-Gómez B, Pollán M, Lope V, *et al.* Cancer mortality trends in Spain: 1980-2007. *Ann Oncol* 2010; 21:iii14-20.
4. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JW, Comber H, *et al.* Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer* 2013;49:1374-403.
5. Vilorio Raymundo L, de la Calle Valverde A, Diéguez Poncela MP, Gómez Lastra L, González Palacios F, Gutiérrez González S, *et al.* Cáncer en Cantabria. 15 años de resultados. Registro de Tumores de Cantabria 1997-2011. 2014.
6. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015;65:87-108.
7. Ravdin PM, Cronin KA, Howlader N, Berg CD, Chlebowski RT, Feuer EJ, *et al.* The decrease in breast-cancer incidence in 2003 in the United States. *N Engl J Med* 2007;356:1670-4.
8. Llorca G, Chirivella I, Morales R, Serrano R, Sánchez AB, Teulé A, *et al.* SEOM clinical guidelines in Hereditary Breast and ovarian cancer. *Clin Transl Oncol* 2015;17:956-61.
9. Sardanelli F, Boetes C, Borisch B, Decker T, Federico M, Gilbert FJ, *et al.* Magnetic resonance imaging of the breast: recommendations from the EUSOMA working group. *Eur J Cancer* 2010: 1296-316.
10. Sardanelli F. Considerations on the application of EUSOMA criteria for preoperative MRI. *Breast* 2013;22:368-9.
11. Padhani AR, Hayes C, Assersohn L, Powles T, Makris A, Suckling J, *et al.* Prediction of clinicopathologic response of breast cancer to primary chemotherapy at contrast-enhanced MR imaging: initial clinical results. *Radiology* 2006; 239:361-74.
12. Marinovich ML, Houssami N, Macaskill P, Sardanelli F, Irwig L, Mamounas EP, *et al.* Meta-analysis of magnetic resonance imaging in detecting residual breast cancer after neoadjuvant therapy. *J Natl Cancer Inst* 2013;105:321-33.
13. De Los Santos JF, Cantor A, Amos KD, Forero A, Golshan M, Horton JK, *et al.* Magnetic resonance imaging as a predictor of pathologic response in

- patients treated with neoadjuvant systemic treatment for operable breast cancer. Translational Breast Cancer Research Consortium trial 017. *Cancer* 2013;119:1776-83.
14. Marinovich ML, Macaskill P, Irwig L, Sardanelli F, von Minckwitz G, Mamounas E, *et al.* Meta-analysis of agreement between MRI and pathologic breast tumour size after neoadjuvant chemotherapy. *Br J Cancer* 2013;109:1528-36.
 15. 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;19:403-10.
 16. Black MM, Speer FD. Nuclear structure in cancer tissues. *Surg Gynecol Obstet* 1957;105:97-102.
 17. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, Gelber RD, Gnant M, Piccart-Gebhart M, *et al.* -Tailoring therapies-improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. *Ann Oncol* 2015;26:1533-46.
 18. Dowsett M, Nielsen TO, A'Hern R, Bartlett J, Coombes RC, Cuzick J, *et al.* Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer working group. *J Natl Cancer Inst* 2011; 103:1656-64.
 19. Thakkar JP, Mehta DG. A review of an unfavorable subset of breast cancer: estrogen receptor positive progesterone receptor negative. *Oncologist* 2011;16:276-85.
 20. Purdie CA, Quinlan P, Jordan LB, Ashfield A, Ogston S, Dewar JA, *et al.* Progesterone receptor expression is an independent prognostic variable in early breast cancer: a population-based study. *Br J Cancer* 2014;110:565-72.
 21. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, *et al.* American Society of Clinical Oncology/College Of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28:2784-95.
 22. Iwamoto T, Booser D, Valero V, Murray JL, Koenig K, Esteva FJ, *et al.* Estrogen receptor (ER) mRNA and ER-related gene expression in breast cancers that are 1% to 10% ER-positive by immunohistochemistry. *J Clin Oncol* 2012; 30:729-34.
 23. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, *et al.* American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:118-45.

24. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, *et al.* Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol* 2013;31:3997-4013.
25. Gradishar WJ, Anderson BO, Balassanian R, Blair SL, Burstein HJ, Cyr A, *et al.* Breast Cancer Version 2.2015. *J Natl Compr Canc Netw* 2015;13:448-75.
26. Györfy B, Hatzis C, Sanft T, Hofstatter E, Aktas B, Pusztai L. Multigene prognostic tests in breast cancer: past, present, future. *Breast Cancer Res* 2015;17:11.
27. Singletary SE, Connolly JL. Breast cancer staging: working with the sixth edition of the AJCC Cancer Staging Manual. *CA Cancer J Clin* 2006;56:37-47.
28. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, *et al.* Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000;406:747-52.
29. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, *et al.* Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001; 98: 10869-74.
30. Alba E, Calvo L, Albanell J, De la Haba JR, Arcusa Lanza A, Chacón JI, *et al.* Chemotherapy (CT) and hormonotherapy (HT) as neoadjuvant treatment in luminal breast cancer patients: results from the GEICAM/2006-03, a multicenter, randomized, phase-II study. *Ann Oncol* 2012;23:3069-74
31. Vaz-Luis I, Winer EP, Lin NU. Human epidermal growth factor receptor-2-positive breast cancer: does estrogen receptor status define two distinct subtypes? *Ann Oncol* 2013;24: 283-91.
32. Hayes DF, Thor AD, Dressler LG, Weaver D, Edgerton S, Cowan D, *et al.* HER2 and response to paclitaxel in node-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2007;357:1496-506.
33. Gennari A, Sormani MP, Pronzato P, Puntoni M, Colozza M, Pfeffer U, *et al.* HER2 status and efficacy of adjuvant anthracyclines in early breast cancer: a pooled analysis of randomized trials. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:14-20.
34. Dawood S, Broglio K, Buzdar AU, Hortobagyi GN, Giordano SH. Prognosis of women with metastatic breast cancer by HER2 status and trastuzumab treatment: an institutional-based review. *J Clin Oncol* 2010;28:92-8.
35. Oakman C, Viale G, Di Leo A. Management of triple negative breast cancer. *Breast* 2010;19:312-21.

Bibliografía

36. Bertucci F, Finetti P, Cervera N, Esterni B, Hermitte F, Viens P, *et al.* How basal are triple-negative breast cancers? *Int J Cancer* 2008;123:236-40.
37. Collett K, Stefansson IM, Eide J, Braaten A, Wang H, Eide GE, *et al.* A basal epithelial phenotype is more frequent in interval breast cancers compared with screen detected tumors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:1108-12.
38. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kahn HK, Sawka CA, *et al.* Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res* 2007;13:4429-34.
39. Rastelli F, Biancanelli S, Falzetta A, Martignetti A, Casi C, Bascioni R, *et al.* Triple-negative breast cancer: current state of the art. *Tumori* 2010;96:875-88.
40. Korsching E, Jeffrey SS, Meinerz W, Decker T, Boecker W, Buerger H. Basal carcinoma of the breast revisited: an old entity with new interpretations. *J Clin Pathol* 2008;61:553-60.
41. Fisher B, Anderson S, Bryant J, Margolese RG, Deutsch M, Fisher ER, *et al.* Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer. *N Engl J Med* 2002;347:1233-41.
42. Veronesi U, Paganelli G, Viale G, Luini A, Zurrada S, Galimberti V, *et al.* A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer. *N Engl J Med* 2003;349:546-53.
43. Darby S, McGale P, Correa C, Taylor C, Arriagada R, Clarke M, *et al.* Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: meta-analysis of individual patient data for 10,801 women in 17 randomised trials. *Lancet* 2011;378:1707-16.
44. Hughes KS, Schnaper LA, Berry D, Cirincione C, McCormick B, Shank B, *et al.* Lumpectomy plus tamoxifen with or without irradiation in women 70 years of age or older with early breast cancer. *N Engl J Med* 2004;351:971-7.
45. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet* 2005;365:1687-717.
46. Martín M, Villar A, Sole-Calvo A, González R, Massuti B, Lizón J, *et al.* Doxorubicin in combination with fluorouracil and cyclophosphamide (i.v. FAC regimen, day 1, 21) versus methotrexate in combination with fluorouracil and cyclophosphamide (i.v. CMF regimen, day 1, 21) as adjuvant chemotherapy for operable breast cancer: a study by the GEICAM group. *Ann Oncol* 2003;14:833-42.

47. Estévez LG, Muñoz M, Álvarez I, Fernández Y, García-Mata J, Ruiz-Borrego M, *et al.* Evidence-based use of taxanes in the adjuvant setting of breast cancer. A review of randomized phase III trials. *Cancer Treat Rev* 2007;33:474-83.
48. Jones S, Holmes FA, O'Shaughnessy J, Blum JL, Vukelja SJ, McIntyre KJ, *et al.* Docetaxel With Cyclophosphamide Is Associated With an Overall Survival Benefit Compared With Doxorubicin and Cyclophosphamide: 7-Year Follow-Up of US Oncology Research Trial 9735. *J Clin Oncol* 2009;27:1177-83.
49. Pagni O, Regan MM, Francis PA, Investigators TaS, Group IBCS. Exemestane with ovarian suppression in premenopausal breast cancer. *N Engl J Med* 2014;371:1358-9.
50. Kesisis G, Makris A, Miles D. Update on the use of aromatase inhibitors in early-stage breast cancer. *Breast Cancer Res* 2009;11:211.
51. Smith IE, Dowsett M, Ebbs SR, Dixon JM, Skene A, Blohmer JU, *et al.* Neoadjuvant treatment of postmenopausal breast cancer with anastrozole, tamoxifen, or both in combination: the Immediate Preoperative Anastrozole, Tamoxifen, or Combined with Tamoxifen (IMPACT) multicenter double-blind randomized trial. *J Clin Oncol* 2005;23:5108-16.
52. Eiermann W, Paepke S, Appfelstaedt J, Llombart-Cussac A, Eremin J, Vinholes J, *et al.* Preoperative treatment of postmenopausal breast cancer patients with letrozole: A randomized double-blind multicenter study. *Ann Oncol* 2001;12:1527-32.
53. Ellis MJ, Suman VJ, Hoog J, Lin L, Snider J, Prat A, *et al.* Randomized phase II neoadjuvant comparison between letrozole, anastrozole, and exemestane for postmenopausal women with estrogen receptor-rich stage 2 to 3 breast cancer: clinical and biomarker outcomes and predictive value of the baseline PAM50-based intrinsic subtype--ACOSOG Z1031. *J Clin Oncol* 2011;29:2342-9.
54. Jahanzeb M. Adjuvant trastuzumab therapy for HER2-positive breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2008;8:324-33.
55. Bonadonna G, Valagussa P, Brambilla C, Ferrari L, Moliterni A, Terenziani M, *et al.* Primary chemotherapy in operable breast cancer: eight-year experience at the Milan Cancer Institute. *J Clin Oncol* 1998;16:93-100.
56. Fisher B, Brown A, Mamounas E, Wieand S, Robidoux A, Margolese RG, *et al.* Effect of preoperative chemotherapy on local-regional disease in women with operable breast cancer: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *J Clin Oncol* 1997;15:2483-93.
57. van der Hage JA, van de Velde CJ, Julien JP, Tubiana-Hulin M, Vandervelden C, Duchateau L. Preoperative chemotherapy in primary operable breast cancer: results from the European Organization for

- Research and Treatment of Cancer trial 10902. *J Clin Oncol* 2001;19:4224-37.
58. Mauri D, Pavlidis N, Ioannidis JP. Neoadjuvant versus adjuvant systemic treatment in breast cancer: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:188-94.
 59. Sledge GW, Neuberg D, Bernardo P, Ingle JN, Martino S, Rowinsky EK, *et al.* Phase III trial of doxorubicin, paclitaxel, and the combination of doxorubicin and paclitaxel as front-line chemotherapy for metastatic breast cancer: an intergroup trial (E1193). *J Clin Oncol* 2003;21:588-92.
 60. Nabholz JM, Falkson C, Campos D, Szanto J, Martin M, Chan S, *et al.* Docetaxel and doxorubicin compared with doxorubicin and cyclophosphamide as first-line chemotherapy for metastatic breast cancer: results of a randomized, multicenter, phase III trial. *J Clin Oncol* 2003;21:968-75.
 61. Tusquets I, Estévez LG, Álvarez I, Muñoz M, Adrover E, Albanell J, *et al.* The use of taxanes in the neoadjuvant treatment of breast cancer: a review of randomized phase II/III trials. *Clin Breast Cancer* 2007;7:764-74.
 62. Gianni L, Baselga J, Eiermann W, Guillem Porta V, Semiglazov V, Lluch A, *et al.* Feasibility and tolerability of sequential doxorubicin/paclitaxel followed by cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil and its effects on tumor response as preoperative therapy. *Clin Cancer Res* 2005;11:8715-21.
 63. Gianni L, Baselga J, Eiermann W, Porta VG, Semiglazov V, Lluch A, *et al.* Phase III trial evaluating the addition of paclitaxel to doxorubicin followed by cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil, as adjuvant or primary systemic therapy: European Cooperative Trial in Operable Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:2474-81.
 64. Dieras V, Fumoleau P, Romieu G, Tubiana-Hulin M, Namer M, Mauriac L, *et al.* Randomized parallel study of doxorubicin plus paclitaxel and doxorubicin plus cyclophosphamide as neoadjuvant treatment of patients with breast cancer. *J Clin Oncol* 2004;22:4958-65.
 65. Evans TR, Yellowlees A, Foster E, Earl H, Cameron DA, Hutcheon AW, *et al.* Phase III randomized trial of doxorubicin and docetaxel versus doxorubicin and cyclophosphamide as primary medical therapy in women with breast cancer: an anglo-celtic cooperative oncology group study. *J Clin Oncol* 2005;23:2988-95.
 66. Smith IC, Heys SD, Hutcheon AW, Miller ID, Payne S, Gilbert FJ, *et al.* Neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: significantly enhanced response with docetaxel. *J Clin Oncol* 2002;20:1456-66.

67. Heys SD, Hutcheon AW, Sarkar TK, Ogston KN, Miller ID, Payne S, *et al.* Neoadjuvant docetaxel in breast cancer: 3-year survival results from the Aberdeen trial. *Clin Breast Cancer* 2002;3:S69-74.
68. Bear HD, Anderson S, Brown A, Smith R, Mamounas EP, Fisher B, *et al.* The effect on tumor response of adding sequential preoperative docetaxel to preoperative doxorubicin and cyclophosphamide: preliminary results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. *J Clin Oncol* 2003;21:4165-74.
69. Buzdar AU, Singletary SE, Valero V, Booser DJ, Ibrahim NK, Rahman Z, *et al.* Evaluation of paclitaxel in adjuvant chemotherapy for patients with operable breast cancer: preliminary data of a prospective randomized trial. *Clin Cancer Res* 2002;8:1073-9.
70. von Minckwitz G, Kummel S, Vogel P, Hanusch C, Eidtmann H, Hilfrich J, *et al.* Neoadjuvant vinorelbine-capecitabine versus docetaxel-doxorubicin-cyclophosphamide in early nonresponsive breast cancer: phase III randomized GeparTrio trial. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:542-51.
71. von Minckwitz G, Kummel S, Vogel P, Hanusch C, Eidtmann H, Hilfrich J, *et al.* Intensified neoadjuvant chemotherapy in early-responding breast cancer: phase III randomized GeparTrio study. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:552-62.
72. Buzdar AU, Ibrahim NK, Francis D, Booser DJ, Thomas ES, Theriault RL, *et al.* Significantly higher pathologic complete remission rate after neoadjuvant therapy with trastuzumab, paclitaxel, and epirubicin chemotherapy: results of a randomized trial in human epidermal growth factor receptor 2-positive operable breast cancer. *J Clin Oncol* 2005;23:3676-85.
73. Gianni L, Eiermann W, Semiglazov V, Manikhas A, Lluch A, Tjulandin S, *et al.* Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (the NOAH trial): a randomised controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort. *Lancet* 2010;375:377-84.
74. Buzdar AU, Valero V, Ibrahim NK, Francis D, Broglio KR, Theriault RL, *et al.* Neoadjuvant therapy with paclitaxel followed by 5-fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide chemotherapy and concurrent trastuzumab in human epidermal growth factor receptor 2-positive operable breast cancer: an update of the initial randomized study population and data of additional patients treated with the same regimen. *Clin Cancer Res* 2007;13:228-33.
75. Semiglazov V, Eiermann W, Zambetti M, Manikhas A, Bozhok A, Lluch A, *et al.* Surgery following neoadjuvant therapy in patients with HER2-

- positive locally advanced or inflammatory breast cancer participating in the NeOAdjuvant Herceptin (NOAH) study. *Eur J Surg Oncol* 2011;37:856-63.
76. Valachis A, Mauri D, Polyzos NP, Chlouverakis G, Mavroudis D, Georgoulis V. Trastuzumab combined to neoadjuvant chemotherapy in patients with HER2-positive breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Breast* 2011;20:485-90.
77. Baselga J, Bradbury I, Eidtmann H, Di Cosimo S, de Azambuja E, Aura C, *et al.* Lapatinib with trastuzumab for HER2-positive early breast cancer (NeoALTTO): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet* 2012;379:633-40.
78. Guarneri V, Frassoldati A, Bottini A, Cagossi K, Bisagni G, Sarti S, *et al.* Preoperative chemotherapy plus trastuzumab, lapatinib, or both in human epidermal growth factor receptor 2-positive operable breast cancer: results of the randomized phase II CHER-LOB study. *J Clin Oncol* 2012;30:1989-95.
79. Gianni L, Pienkowski T, Im YH, Roman L, Tseng LM, Liu MC, *et al.* Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a randomised multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2012;13:25-32.
80. von Minckwitz G, Rezai M, Loibl S, Fasching PA, Huober J, Tesch H, *et al.* Capecitabine in addition to anthracycline- and taxane-based neoadjuvant treatment in patients with primary breast cancer: phase III GeparQuattro study. *J Clin Oncol* 2010;28:2015-23.
81. Untch M, Loibl S, Bischoff J, Eidtmann H, Kaufmann M, Blohmer JU, *et al.* Lapatinib versus trastuzumab in combination with neoadjuvant anthracycline-taxane-based chemotherapy (GeparQuinto, GBG 44): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012;13:135-44.
82. von Minckwitz G, Eidtmann H, Rezai M, Fasching PA, Tesch H, Eggemann H, *et al.* Neoadjuvant chemotherapy and bevacizumab for HER2-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2012;366:299-309.
83. Bear HD, Tang G, Rastogi P, Geyer CE, Jr., Robidoux A, Atkins JN, *et al.* Bevacizumab added to neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. *N Engl J Med* 2012;366:310-20.
84. Sikov WM, Berry DA, Perou CM, Singh B, Cirrincione CT, Tolaney SM, *et al.* Impact of the addition of carboplatin and/or bevacizumab to neoadjuvant once-per-week paclitaxel followed by dose-dense doxorubicin and cyclophosphamide on pathologic complete response rates in stage II to III triple-negative breast cancer: CALGB 40603 (Alliance). *J Clin Oncol* 2015;33:13-21.

85. Earl HM, Hiller L, Dunn JA, Blenkinsop C, Grybowicz L, Vallier AL, *et al.* Efficacy of neoadjuvant bevacizumab added to docetaxel followed by fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide, for women with HER2-negative early breast cancer (ARTemis): an open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2015;16:656-66.
86. Uematsu T, Kasami M, Yuen S. Neoadjuvant chemotherapy for breast cancer: correlation between the baseline MR imaging findings and responses to therapy. *Eur Radiol* 2010;20:2315-22.
87. von Minckwitz G, Untch M, Blohmer JU, Costa SD, Eidtmann H, Fasching PA, *et al.* Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J Clin Oncol* 2012;1796-804.
88. Cortazar P, Zhang L, Untch M, Mehta K, Costantino JP, Wolmark N, *et al.* Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet* 2014;384:164-72.
89. Kaufmann M, von Minckwitz G, Mamounas EP, Cameron D, Carey LA, Cristofanilli M, *et al.* Recommendations from an international consensus conference on the current status and future of neoadjuvant systemic therapy in primary breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2012;19:1508-16.
90. Cristofanilli M, Gonzalez-Angulo A, Sneige N, Kau SW, Broglio K, Theriault RL, *et al.* Invasive lobular carcinoma classic type: response to primary chemotherapy and survival outcomes. *J Clin Oncol* 2005;23:41-8.
91. Joh JE, Esposito NN, Kiluk JV, Laronga C, Khakpour N, Soliman H, *et al.* Pathologic Tumor Response of Invasive Lobular Carcinoma to Neo-adjuvant Chemotherapy. *Breast J* 2012;18:569-74.
92. Straver ME, Rutgers EJ, Rodenhuis S, Linn SC, Loo CE, Wesseling J, *et al.* The relevance of breast cancer subtypes in the outcome of neoadjuvant chemotherapy. *Ann Surg Oncol* 2010;17:2411-8.
93. Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, Ibrahim N, Cristofanilli M, Anderson K, *et al.* Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005;11:5678-85.
94. Carey LA, Dees EC, Sawyer L, Gatti L, Moore DT, Collichio F, *et al.* The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res* 2007;13:2329-34.
95. von Minckwitz G, Untch M, Nuesch E, Loibl S, Kaufmann M, Kummel S, *et al.* Impact of treatment characteristics on response of different breast cancer phenotypes: pooled analysis of the German neo-adjuvant chemotherapy trials. *Breast Cancer Res Treat* 2011;125:145-56.
96. Bossuyt V, Provenzano E, Symmans WF, Boughey JC, Coles C, Curigliano G, *et al.* Recommendations for standardized pathological

- characterization of residual disease for neoadjuvant clinical trials of breast cancer by the BIG-NABCG collaboration. *Ann Oncol* 2015;26:1280-91.
97. Provenzano E, Bossuyt V, Viale G, Cameron D, Badve S, Denkert C, *et al.* Standardization of pathologic evaluation and reporting of postneoadjuvant specimens in clinical trials of breast cancer: recommendations from an international working group. *Mod Pathol* 2015;28:1185-201.
 98. Edge S, Byrd D, Compton C, Fritz A, Greene F, Trotter A. The AJCC Cancer Staging Manual. 7th ed. Edge S, Byrd D, Compton C, Fritz A, Greene F, Trotter A, editors. New York: Springer 2010.
 99. Miller M, Ottesen RA, Niland JC, Kruper L, Chen SL, Vito C. Tumor response ratio predicts overall survival in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Ann Surg Oncol* 2014;21:3317-23.
 100. 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* 2003;12:320-7.
 101. 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* 2007;25:4414-22.
 102. Chollet P, Abrial C, Durando X, Thivat E, Tacca O, Mouret-Reynier MA, *et al.* A new prognostic classification after primary chemotherapy for breast cancer: residual disease in breast and nodes (RDBN). *Cancer J* 2008;14:128-32.
 103. Chevallier B, Roche H, Olivier JP, Chollet P, Hurteloup P. Inflammatory breast cancer. Pilot study of intensive induction chemotherapy (FEC-HD) results in a high histologic response rate. *Am J Clin Oncol* 1993;16:223-8.
 104. Jeruss JS, Mittendorf EA, Tucker SL, González-Angulo AM, Buchholz TA, Sahin AA, *et al.* Staging of breast cancer in the neoadjuvant setting. *Cancer Res* 2008;68:6477-81.
 105. Jeruss JS, Mittendorf EA, Tucker SL, Gonzalez-Angulo AM, Buchholz TA, Sahin AA, *et al.* Combined use of clinical and pathologic staging variables to define outcomes for breast cancer patients treated with neoadjuvant therapy. *J Clin Oncol* 2008;26:246-52.
 106. Jones AL, Smith IE, O'Brien ME, Talbot D, Walsh G, Ramage F, *et al.* Phase II study of continuous infusion fluorouracil with epirubicin and cisplatin in patients with metastatic and locally advanced breast cancer: an active new regimen. *J Clin Oncol* 1994;12:1259-65.
 107. Smith IE, Walsh G, Jones A, Prendiville J, Johnston S, Gusterson B, *et al.* High complete remission rates with primary neoadjuvant infusional chemotherapy for large early breast cancer. *J Clin Oncol* 1995;13:424-9.

108. Martín M. Platinum compounds in the treatment of advanced breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2001;2:190-208.
109. Pérez EA. Carboplatin in combination therapy for metastatic breast cancer. *Oncologist* 2004;9:518-27.
110. Shamseddine AI, Farhat FS. Platinum-based compounds for the treatment of metastatic breast cancer. *Chemotherapy* 2011;57:468-87.
111. Isakoff SJ. Triple-negative breast cancer: role of specific chemotherapy agents. *Cancer J* 2010;16:53-61.
112. de Juan Ferré A, López-Vega J, López Muñoz A, López López C, Martínez de Castro E, García Castaño A, *et al.* Neoadyuvancia secuencial, con platino y ADR, seguidos de paclitaxel semanal, en cáncer de mama estadios I-III. X Congresos de la SEOM. *Clin Transl Oncol* 2005;7:21, PD-8.
113. Smith IE, A'Hern RP, Coombes GA, Howell A, Ebbs SR, Hickish TF, *et al.* A novel continuous infusional 5-fluorouracil-based chemotherapy regimen compared with conventional chemotherapy in the neo-adjuvant treatment of early breast cancer: 5 year results of the TOPIC trial. *Ann Oncol* 2004;15:751-8.
114. Cimino-Mathews A, Foote JB, Emens LA. Immune targeting in breast cancer. *Oncology (Williston Park)* 2015;29:375-85.
115. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, Sanders ME, Chakravarthy AB, Shyr Y, *et al.* Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest* 2011;121:2750-67.
116. Burstein MD, Tsimelzon A, Poage GM, Covington KR, Contreras A, Fuqua SA, *et al.* Comprehensive genomic analysis identifies novel subtypes and targets of triple-negative breast cancer. *Clin Cancer Res* 2015;21:1688-98.
117. Vera-Badillo FE, Templeton AJ, de Gouveia P, Díaz-Padilla I, Bedard PL, Al-Mubarak M, *et al.* Androgen receptor expression and outcomes in early breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2014;106:djt319.
118. Doane AS, Danso M, Lal P, Donaton M, Zhang L, Hudis C, *et al.* An estrogen receptor-negative breast cancer subset characterized by a hormonally regulated transcriptional program and response to androgen. *Oncogene* 2006;25:3994-4008.
119. Network CGA. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2012;490:61-70.
120. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, *et al.* Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004;10:5367-74.

121. Rimawi MF, Shetty PB, Weiss HL, Schiff R, Osborne CK, Chamness GC, *et al.* Epidermal growth factor receptor expression in breast cancer association with biologic phenotype and clinical outcomes. *Cancer* 2010;116:1234-42.
122. Changavi AA, Shashikala A, Ramji AS. Epidermal Growth Factor Receptor Expression in Triple Negative and Nontriple Negative Breast Carcinomas. *J Lab Physicians* 2015;7:79-83.
123. Zhou B, Moodie A, Blanchard AA, Leygue E, Myal Y. Claudin 1 in Breast Cancer: New Insights. *J Clin Med* 2015;4:1960-76.
124. Prat A, Parker JS, Karginova O, Fan C, Livasy C, Herschkowitz JI, *et al.* Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. *Breast Cancer Res* 2010;12:R68.
125. Scimeca M, Antonacci C, Colombo D, Bonfiglio R, Buonomo OC, Bonanno E. Emerging prognostic markers related to mesenchymal characteristics of poorly differentiated breast cancers. *Tumour Biol* 2015;12 (epub ahead of print).
126. Yamashita N, Tokunaga E, Kitao H, Hisamatsu Y, Taketani K, Akiyoshi S, *et al.* Vimentin as a poor prognostic factor for triple-negative breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013;139:739-46.
127. Sousa B, Paredes J, Milanezi F, Lopes N, Martins D, Dufloth R, *et al.* P-cadherin, vimentin and CK14 for identification of basal-like phenotype in breast carcinomas: an immunohistochemical study. *Histol Histopathol* 2010;25:963-74.
128. Beckers RK, Selinger CI, Vilain R, Madore J, Wilmott JS, Harvey K, *et al.* PDL1 expression in triple-negative breast cancer is associated with tumour-infiltrating lymphocytes and improved outcome. *Histopathology* 2015;20 (epub ahead of print).
129. Bertucci F, Finetti P, Colpaert C, Mamessier E, Parizel M, Dirix L, *et al.* PDL1 expression in inflammatory breast cancer is frequent and predicts for the pathological response to chemotherapy. *Oncotarget* 2015;6:13506-19.
130. Sabatier R, Finetti P, Mamessier E, Adelaide J, Chaffanet M, Ali HR, *et al.* Prognostic and predictive value of PDL1 expression in breast cancer. *Oncotarget* 2015;6:5449-64.
131. Alonso-Bartolomé P, Ortega García E, Garijo Ayensa F, de Juan Ferré A, Vega Bolívar A. Utility of the tumor bed marker in patients with breast cancer receiving induction chemotherapy. *Acta Radiol* 2002;43:29-33.
132. Leake R, Barnes D, Pinder S, Ellis I, Anderson L, Anderson T, *et al.* Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. UK Receptor Group, UK NEQAS, The Scottish Breast Cancer Pathology Group, and The Receptor and Biomarker Study Group of the EORTC. *J Clin Pathol* 2000;53:634-5.

133. Albanell J, Andreu X, Calasanz MJ, Concha A, Corominas JM, García-Caballero T, *et al.* Guidelines for HER2 testing in breast cancer: a national consensus of the Spanish Society of Pathology (SEAP) and the Spanish Society of Medical Oncology (SEOM). *Clin Transl Oncol* 2009;11:363-75.
134. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thurlimann B, Senn HJ. Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol* 2011;22:1736-47.
135. Ricciardi GR, Adamo B, Ieni A, Licata L, Cardia R, Ferraro G, *et al.* Androgen Receptor (AR), E-Cadherin, and Ki-67 as Emerging Targets and Novel Prognostic Markers in Triple-Negative Breast Cancer (TNBC) Patients. *PLoS One* 2015;10:e0128368.
136. Blanchard AA, Watson PH, Shiu RP, Leygue E, Nistor A, Wong P, *et al.* Differential expression of claudin 1, 3, and 4 during normal mammary gland development in the mouse. *DNA Cell Biol* 2006;25:79-86.
137. Zhang DP, Li XW, Lang JH. Prognostic Value of β -catenin Expression in Breast Cancer Patients: a Meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015;16:5625-33.
138. Yu H, Yang J, Jiao S, Li Y, Zhang W, Wang J. Cytotoxic T lymphocyte antigen 4 expression in human breast cancer: implications for prognosis. *Cancer Immunol Immunother* 2015;64:853-60.
139. Singhai R, Patil VW, Jaiswal SR, Patil SD, Tayade MB, Patil AV. E-Cadherin as a diagnostic biomarker in breast cancer. *N Am J Med Sci* 2011;3:227-33.
140. Hwang KT, Woo JW, Shin HC, Kim HS, Ahn SK, Moon HG, *et al.* Prognostic influence of BCL2 expression in breast cancer. *Int J Cancer* 2012;131:E1109-19.
141. Lee WY, Jin YT, Tzeng CC. Reciprocal expression of Bcl-2 and p53 in breast ductal carcinoma. *Anticancer Res* 1996;16:3007-12.
142. Callagy GM, Pharoah PD, Pinder SE, Hsu FD, Nielsen TO, Ragaz J, *et al.* Bcl-2 is a prognostic marker in breast cancer independently of the Nottingham Prognostic Index. *Clin Cancer Res* 2006;12:2468-75.
143. Ferrandina G, Scambia G, Bardelli F, Benedetti Panici P, Mancuso S, Messori A. Relationship between cathepsin-D content and disease-free survival in node-negative breast cancer patients: a meta-analysis. *Br J Cancer* 1997;76:661-6.
144. Dian D, Vrekoussis T, Shabani N, Mylonas I, Kuhn C, Schindlbeck C, *et al.* Expression of cathepsin-D in primary breast cancer and corresponding local recurrence or metastasis: an immunohistochemical study. *Anticancer Res* 2012;32:901-5.

145. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, *et al.* The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol* 2015;26:259-71.
146. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, *et al.* New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 2009;45:228-47.
147. Hosmer D, Lemeshow S. *Applied logistic regression*. 2^a ed. New York, Willey 2000.
148. DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics* 1988;44:837-45.
149. Cancer CGoHFIB. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. *Lancet* 2001;358:1389-99.
150. Ando M, Yamauchi H, Aogi K, Shimizu S, Iwata H, Masuda N, *et al.* Randomized phase II study of weekly paclitaxel with and without carboplatin followed by cyclophosphamide/epirubicin/5-fluorouracil as neoadjuvant chemotherapy for stage II/IIIA breast cancer without HER2 overexpression. *Breast Cancer Res Treat* 2014;145:401-9.
151. 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* 2014;15:747-56.
152. Tamura K, Hashimoto J, Tsuda H, Yoshida M, Yamouchi H, Aogi K, *et al.* Randomized phase II study of weekly paclitaxel with or without carboplatin followed by cyclophosphamide/epirubicin/5-fluorouracil as neoadjuvant chemotherapy for stage II/IIIA HER2-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2014;32:5s.
153. Wildiers H, Forceville K, Paridaens R, Joensuu H. Taxanes and anthracyclines in early breast cancer: which first? *Lancet Oncol* 2010;11:219-20.
154. Toi M, Nakamura S, Kuroi K, Iwata H, Ohno S, Masuda N, *et al.* Phase II study of preoperative sequential FEC and docetaxel predicts of pathological response and disease free survival. *Breast Cancer Res Treat* 2008;110:531-9.
155. Iwata H, Sato N, Masuda N, Nakamura S, Yamamoto N, Kuroi K, *et al.* Docetaxel followed by fluorouracil/epirubicin/cyclophosphamide as neoadjuvant chemotherapy for patients with primary breast cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2011;41:867-75.

156. Earl HM, Vallier AL, Hiller L, Fenwick N, Young J, Iddawela M, *et al.* Effects of the addition of gemcitabine, and paclitaxel-first sequencing, in neoadjuvant sequential epirubicin, cyclophosphamide, and paclitaxel for women with high-risk early breast cancer (Neo-tAnGo): an open-label, 2x2 factorial randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014;15:201-12.
157. Simon R, Norton L. The Norton-Simon hypothesis: designing more effective and less toxic chemotherapeutic regimens. *Nat Clin Pract Oncol* 2006;3:406-7.
158. Berruti A, Amoroso V, Gallo F, Bertaglia V, Simoncini E, Pedersini R, *et al.* Pathologic complete response as a potential surrogate for the clinical outcome in patients with breast cancer after neoadjuvant therapy: a meta-regression of 29 randomized prospective studies. *J Clin Oncol* 2014;32:3883-91.
159. von Minckwitz G, Raab G, Caputo A, Schutte M, Hilfrich J, Blohmer JU, *et al.* Doxorubicin with cyclophosphamide followed by docetaxel every 21 days compared with doxorubicin and docetaxel every 14 days as preoperative treatment in operable breast cancer: the GEPARUO study of the German Breast Group. *J Clin Oncol* 2005;23:2676-85.
160. Untch M, Möbus V, Kuhn W, Muck BR, Thomssen C, Bauerfeind I, *et al.* Intensive dose-dense compared with conventionally scheduled preoperative chemotherapy for high-risk primary breast cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:2938-45.
161. Seidman AD, Berry D, Cirincione C, Harris L, Muss H, Marcom PK, *et al.* Randomized phase III trial of weekly compared with every-3-weeks paclitaxel for metastatic breast cancer, with trastuzumab for all HER-2 overexpressors and random assignment to trastuzumab or not in HER-2 nonoverexpressors: final results of Cancer and Leukemia Group B protocol 9840. *J Clin Oncol* 2008;26:1642-9.
162. Sparano JA, Wang M, Martino S, Jones V, Perez EA, Saphner T, *et al.* Weekly paclitaxel in the adjuvant treatment of breast cancer. *N Engl J Med* 2008;358:1663-71.
163. Green MC, Buzdar AU, Smith T, Ibrahim NK, Valero V, Rosales MF, *et al.* Weekly paclitaxel improves pathologic complete remission in operable breast cancer when compared with paclitaxel once every 3 weeks. *J Clin Oncol* 2005;23:5983-92.
164. Corben AD, Abi-Raad R, Popa I, Teo CH, Macklin EA, Koerner FC, *et al.* Pathologic response and long-term follow-up in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy: a comparison between classifications and their practical application. *Arch Pathol Lab Med* 2013;137:1074-82.

165. Stucky CC, McLaughlin SA, Dueck AC, Gray RJ, Giurescu ME, Carpenter SG, *et al.* Does magnetic resonance imaging accurately predict residual disease in breast cancer? *Am J Surg* 2009;198:547-52.
166. Chagpar AB, Middleton LP, Sahin AA, Dempsey P, Buzdar AU, Mirza AN, *et al.* Accuracy of physical examination, ultrasonography, and mammography in predicting residual pathologic tumor size in patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Ann Surg* 2006;243:257-64.
167. Loo CE, Straver ME, Rodenhuis S, Muller SH, Wesseling J, Vrancken Peeters MJ, *et al.* Magnetic resonance imaging response monitoring of breast cancer during neoadjuvant chemotherapy: relevance of breast cancer subtype. *J Clin Oncol* 2011;29:660-6.
168. Franceschini G, Martín Sánchez A, Di Leone A, Magno S, Moschella F, Accetta C, *et al.* New trends in breast cancer surgery: a therapeutic approach increasingly efficacy and respectful of the patient. *G Chir* 2015;36:145-52.
169. Earl H, Provenzano E, Abraham J, Dunn J, Vallier AL, Gounaris I, *et al.* Neoadjuvant trials in early breast cancer: pathological response at surgery and correlation to longer term outcomes - what does it all mean? *BMC Med* 2015;13:234.
170. Sataloff DM, Mason BA, Prestipino AJ, Seinige UL, Lieber CP, Baloch Z. Pathologic response to induction chemotherapy in locally advanced carcinoma of the breast: a determinant of outcome. *J Am Coll Surg* 1995;180:297-306.
171. Kaufmann M, Hortobagyi GN, Goldhirsch A, Scholl S, Makris A, Valagussa P, *et al.* Recommendations from an international expert panel on the use of neoadjuvant (primary) systemic treatment of operable breast cancer: an update. *J Clin Oncol* 2006;24:1940-9.
172. von Minckwitz G, Blohmer JU, Raab G, Lohr A, Gerber B, Heinrich G, *et al.* In vivo chemosensitivity-adapted preoperative chemotherapy in patients with early-stage breast cancer: the GEPARTRIO pilot study. *Ann Oncol* 2005;16:56-63.
173. Guarneri V, Broglio K, Kau SW, Cristofanilli M, Buzdar AU, Valero V, *et al.* Prognostic value of pathologic complete response after primary chemotherapy in relation to hormone receptor status and other factors. *J Clin Oncol* 2006;24:1037-44.
174. Marinovich ML, Macaskill P, Irwig L, Sardanelli F, Mamounas E, von Minckwitz G, *et al.* Agreement between MRI and pathologic breast tumor size after neoadjuvant chemotherapy, and comparison with alternative tests: individual patient data meta-analysis. *BMC Cancer* 2015;15:662.
175. Loo CE, Teertstra HJ, Rodenhuis S, van de Vijver MJ, Hannemann J, Muller SH, *et al.* Dynamic contrast-enhanced MRI for prediction of breast

- cancer response to neoadjuvant chemotherapy: initial results. *AJR Am J Roentgenol* 2008;191:1331-8.
176. Gómez-Raposo C, Andreu M, Suárez-García I, Esteban MI, Carballo M, Sereno-Moyano MF, *et al.* Relevance of breast cancer subtypes for magnetic resonance imaging response monitoring during neoadjuvant chemotherapy. *Clin Transl Oncol* 2012;14:486-8.
177. Lips EH, Mulder L, de Ronde JJ, Mandjes IA, Koolen BB, Wessels LF, *et al.* Breast cancer subtyping by immunohistochemistry and histological grade outperforms breast cancer intrinsic subtypes in predicting neoadjuvant chemotherapy response. *Breast Cancer Res Treat* 2013;140:63-71.
178. Loibl S, von Minckwitz G, Untch M, Denkert C, Group GB. Predictive factors for response to neoadjuvant therapy in breast cancer. *Oncol Res Treat* 2014;37:563-8.
179. Sjögren S, Inganäs M, Norberg T, Lindgren A, Nordgren H, Holmberg L, *et al.* The p53 gene in breast cancer: prognostic value of complementary DNA sequencing versus immunohistochemistry. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:173-82.
180. Harris L, Fritsche H, Mennel R, Norton L, Ravdin P, Taube S, *et al.* American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:5287-312.
181. Chen MB, Zhu YQ, Xu JY, Wang LQ, Liu CY, Ji ZY, *et al.* Value of TP53 status for predicting response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: a meta-analysis. *PLoS One* 2012;7:e39655.
182. Kim T, Han W, Kim MK, Lee JW, Kim J, Ahn SK, *et al.* Predictive Significance of p53, Ki-67, and Bcl-2 Expression for Pathologic Complete Response after Neoadjuvant Chemotherapy for Triple-Negative Breast Cancer. *J Breast Cancer* 2015;18:16-21.
183. Kurozumi S, Inoue K, Takei H, Matsumoto H, Kurozumi M, Horiguchi J, *et al.* ER, PgR, Ki67, p27(Kip1), and histological grade as predictors of pathological complete response in patients with HER2-positive breast cancer receiving neoadjuvant chemotherapy using taxanes followed by fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide concomitant with trastuzumab. *BMC Cancer* 2015;15:622.
184. Mao Y, Qu Q, Zhang Y, Liu J, Chen X, Shen K. The value of tumor infiltrating lymphocytes (TILs) for predicting response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2014;9:e115103.
185. Lee HJ, Park IA, Song IH, Kim SB, Jung KH, Ahn JH, *et al.* Comparison of Pathologic Response Evaluation Systems after Anthracycline with/without Taxane-Based Neoadjuvant Chemotherapy among Different Subtypes of Breast Cancers. *PLoS One* 2015;10:e0137885.

186. Song YJ, Shin SH, Cho JS, Park MH, Yoon JH, Jegal YJ. The role of lymphovascular invasion as a prognostic factor in patients with lymph node-positive operable invasive breast cancer. *J Breast Cancer* 2011;14:198-203.
187. Shen SD, Zhong SZ, Wang CZ, Huang WH. Correlation of lymphovascular invasion with clinicopathological factors in invasive breast cancer: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med* 2015;8:17789-95.
188. GEICAM. Mujeres con tratamiento neoadyuvante. En: Proyecto el Álamo III. Encuesta de evolución de pacientes con cáncer de mama en hospitales del grupo GEICAM. 2014;10:124-46.
189. Rastogi P, Anderson SJ, Bear HD, Geyer CE, Kahlenberg MS, Robidoux A, *et al.* Preoperative chemotherapy: updates of National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocols B-18 and B-27. *J Clin Oncol* 2008;26:778-85.
190. Huober J, von Minckwitz G, Denkert C, Tesch H, Weiss E, Zahm DM, *et al.* Effect of neoadjuvant anthracycline-taxane-based chemotherapy in different biological breast cancer phenotypes: overall results from the GeparTrio study. *Breast Cancer Res Treat* 2010;124:133-40.
191. Fredholm H, Eaker S, Frisell J, Holmberg L, Fredriksson I, Lindman H. Breast cancer in young women: poor survival despite intensive treatment. *PLoS One* 2009;4:e7695.
192. Liedtke C, Rody A, Gluz O, Baumann K, Beyer D, Kohls EB, *et al.* The prognostic impact of age in different molecular subtypes of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2015;152:667-73.
193. Eaker S, Dickman PW, Bergkvist L, Holmberg L, Group UOBC. Differences in management of older women influence breast cancer survival: results from a population-based database in Sweden. *PLoS Med* 2006;3:e25.
194. Sahoo S, Lester SC. Pathology of breast carcinomas after neoadjuvant chemotherapy: an overview with recommendations on specimen processing and reporting. *Arch Pathol Lab Med* 2009;133:633-42.
195. Vasudevan D, Jayalakshmy PS, Kumar S, Mathew S. Assessment of Pathological Response of Breast Carcinoma in Modified Radical Mastectomy Specimens after Neoadjuvant Chemotherapy. *Int J Breast Cancer* 2015;2015:536145.
196. Sheri A, Smith IE, Johnston SR, A'Hern R, Nerurkar A, Jones RL, *et al.* Residual proliferative cancer burden to predict long-term outcome following neoadjuvant chemotherapy. *Ann Oncol* 2015;26:75-80.
197. García-Martínez E, Gil GL, Benito AC, González-Billalabeitia E, Conesa MA, García García T, *et al.* Tumor-infiltrating immune cell profiles and their change after neoadjuvant chemotherapy predict response and prognosis of breast cancer. *Breast Cancer Res* 2014;16:488.

198. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer* 1989;63:181-7.
199. de Azambuja E, Cardoso F, de Castro G, Colozza M, Mano MS, Durbecq V, *et al.* Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. *Br J Cancer* 2007;96:1504-13.
200. Stuart-Harris R, Caldas C, Pinder SE, Pharoah P. Proliferation markers and survival in early breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 85 studies in 32,825 patients. *Breast* 2008;17:323-34.
201. Guiu S, Michiels S, André F, Cortes J, Denkert C, Di Leo A, *et al.* Molecular subclasses of breast cancer: how do we define them? The IMPAKT 2012 Working Group Statement. *Ann Oncol* 2012;23:2997-3006.
202. Palmieri C, Macpherson IR, Yan K, Ades F, Riddle P, Ahmed R, *et al.* Neoadjuvant chemotherapy and trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy followed by post-operative trastuzumab for patients with HER2-positive breast cancer. *Oncotarget* 2015;21 (epub ahead of print).
203. Perez EA, Suman VJ, Davidson NE, Gralow JR, Kaufman PA, Visscher DW, *et al.* Sequential versus concurrent trastuzumab in adjuvant chemotherapy for breast cancer. *J Clin Oncol* 2011;29:4491-7.
204. Pons V, Burgués O, Pérez-Fidalgo J, Martínez M, Pinilla K, Bermejo B, *et al.* Validation of residual cancer burden index (RCB) as a prognostic tool in patients with early breast cancer (EBC) treated with neoadjuvant chemotherapy (NAC): Comparison of RCB and Miller & Payne system (M&P). *San Antonio Breast Cancer Symposium 2015*: p1-14-13.
205. Sataloff DM, Mason BA, Prestipino AJ, Seinige UL, Lieber CP, Baloch Z. Pathologic response to induction chemotherapy in locally advanced carcinoma of the breast: a determinant of outcome. *J Am Coll Surg* 1995;180:297-306.
206. Alluri P, Newman LA. Basal-like and triple-negative breast cancers: searching for positives among many negatives. *Surg Oncol Clin N Am* 2014;23:567-77.
207. Redondo CM, Gago-Domínguez M, Ponte SM, Castelo ME, Jiang X, García AA, *et al.* Breast feeding, parity and breast cancer subtypes in a Spanish cohort. *PLoS One* 2012;7:e40543.
208. Shinde SS, Forman MR, Kuerer HM, Yan K, Peintinger F, Hunt KK, *et al.* Higher parity and shorter breastfeeding duration: association with triple-negative phenotype of breast cancer. *Cancer* 2010;116:4933-43.
209. Pierobon M, Frankenfeld CL. Obesity as a risk factor for triple-negative breast cancers: a systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2013;137:307-14.

210. Uematsu T, Kasami M, Yuen S. Triple-negative breast cancer: correlation between MR imaging and pathologic findings. *Radiology* 2009;250:638-47.
211. Dogan BE, Turnbull LW. Imaging of triple-negative breast cancer. *Ann Oncol* 2012;23:vi23-vi9.
212. Gerber B, Loibl S, Eidtmann H, Rezai M, Fasching PA, Tesch H, *et al.* Neoadjuvant bevacizumab and anthracycline-taxane-based chemotherapy in 678 triple-negative primary breast cancers; results from the geparquinto study (GBG 44). *Ann Oncol* 2013;24:2978-84.
213. Kern P, Kalisch A, Kolberg HC, Kimmig R, Otterbach F, von Minckwitz G, *et al.* Neoadjuvant, anthracycline-free chemotherapy with carboplatin and docetaxel in triple-negative, early-stage breast cancer: a multicentric analysis of feasibility and rates of pathologic complete response. *Chemotherapy* 2013;59:387-94.
214. Crutcher C, Cornwell L, Chapparg A. Effect of triple-negative status on surgical decision making. *Breast Cancer Symposium* 2010; 154.
215. Freedman GM, Anderson PR, Li T, Nicolaou N. Locoregional recurrence of triple-negative breast cancer after breast-conserving surgery and radiation. *Cancer* 2009;115:946-51.
216. Kirova YM, Stoppa-Lyonnet D, Savignoni A, Sigal-Zafrani B, Fabre N, Fourquet A, *et al.* Risk of breast cancer recurrence and contralateral breast cancer in relation to BRCA1 and BRCA2 mutation status following breast-conserving surgery and radiotherapy. *Eur J Cancer* 2005;41:2304-11.
217. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, Andre F, Tordai A, Mejía JA, *et al.* Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:1275-81.
218. Wang S, Yang H, Tong F, Zhang J, Yang D, Liu H, *et al.* Response to neoadjuvant therapy and disease free survival in patients with triple-negative breast cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 2009;36:255-8.
219. Keam B, Im SA, Kim HJ, Oh DY, Kim JH, Lee SH, *et al.* Prognostic impact of clinicopathologic parameters in stage II/III breast cancer treated with neoadjuvant docetaxel and doxorubicin chemotherapy: paradoxical features of the triple negative breast cancer. *BMC Cancer* 2007;7:203.
220. von Minckwitz G, Martín M. Neoadjuvant treatments for triple-negative breast cancer (TNBC). *Ann Oncol* 2012;23:vi35-vi9.
221. Silver DP, Richardson AL, Eklund AC, Wang ZC, Szallasi Z, Li Q, *et al.* Efficacy of neoadjuvant Cisplatin in triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:1145-53.
222. Sikov WM, Dizon DS, Strenger R, Legare RD, Theall KP, Graves TA, *et al.* Frequent pathologic complete responses in aggressive stages II to III breast cancers with every-4-week carboplatin and weekly paclitaxel with or

- without trastuzumab: a Brown University Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 2009;27:4693-700.
223. Chen XS, Nie XQ, Chen CM, Wu JY, Wu J, Lu JS, *et al.* Weekly paclitaxel plus carboplatin is an effective nonanthracycline-containing regimen as neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. *Ann Oncol* 2010;21:961-7.
224. Roy V, Pockaj BA, Allred JB, Apsey H, Northfelt DW, Nikcevich D, *et al.* A Phase II Trial of Docetaxel and Carboplatin Administered Every 2 Weeks as Preoperative Therapy for Stage II or III Breast Cancer: NCCTG Study N0338. *Am J Clin Oncol* 2013;36: 540-4.
225. Chang HR, Glaspy J, Allison MA, Kass FC, Elashoff R, Chung DU, *et al.* Differential response of triple-negative breast cancer to a docetaxel and carboplatin-based neoadjuvant treatment. *Cancer* 2010;116:4227-37.
226. Alba E, Chacón JI, Lluch A, Antón A, Estévez L, Cirauqui B, *et al.* A randomized phase II trial of platinum salts in basal-like breast cancer patients in the neoadjuvant setting. Results from the GEICAM/2006-03, multicenter study. *Breast Cancer Res Treat.* 2012;136:487-93.
227. Valsecchi ME, Kimmey G, Bir A, Silbermins D. Role of Carboplatin in the Treatment of Triple Negative Early- Stage Breast Cancer. *Rev Recent Clin Trials* 2015;10:101-10.
228. Kim HR, Jung KH, Im SA, Im YH, Kang SY, Park KH, *et al.* Multicentre phase II trial of bevacizumab combined with docetaxel-carboplatin for the neoadjuvant treatment of triple-negative breast cancer (KCSG BR-0905). *Ann Oncol* 2013;24:1485-90.
229. von Minckwitz G, Hahnen E, Fasching P, Hauke J, Schneeweiss A, Salat C, *et al.* Pathological complete response (pCR) rates after carboplatin-containing neoadjuvant chemotherapy in patients with germ line BRCA (gBRCA) mutation and triple-negative breast cancer (TNBC): Results from GeparSixto. *J Clin Oncol* 2014;32:5s.
230. Telli ML, Jensen KC, Vinayak S, Kurian AW, Lipson JA, Flaherty PJ, *et al.* Phase II Study of Gemcitabine, Carboplatin, and Iniparib As Neoadjuvant Therapy for Triple-Negative and BRCA1/2 Mutation-Associated Breast Cancer With Assessment of a Tumor-Based Measure of Genomic Instability: PrECOG 0105. *J Clin Oncol* 2015;33:1895-901.
231. Saphner T, Tormey DC, Gray R. Annual hazard rates of recurrence for breast cancer after primary therapy. *J Clin Oncol* 1996;14:2738-46.
232. Tung NM, Winer EP. Tumor-infiltrating lymphocytes and response to platinum in triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2015;33:969-71.
233. Cheang MC, Voduc D, Bajdik C, Leung S, McKinney S, Chia SK, *et al.* Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. *Clin Cancer Res* 2008;14:1368-76.

234. Masuda H, Baggerly KA, Wang Y, Zhang Y, González-Angulo AM, Meric-Bernstam F, *et al.* Differential response to neoadjuvant chemotherapy among 7 triple-negative breast cancer molecular subtypes. *Clin Cancer Res* 2013;19:5533-40.
235. Safarpour D, Pakneshan S, Tavassoli FA. Androgen receptor (AR) expression in 400 breast carcinomas: is routine AR assessment justified? *Am J Cancer Res* 2014;4:353-68.
236. Gucalp A, Tolaney S, Isakoff SJ, Ingle JN, Liu MC, Carey LA, *et al.* Phase II trial of bicalutamide in patients with androgen receptor-positive, estrogen receptor-negative metastatic Breast Cancer. *Clin Cancer Res* 2013;19:5505-12.
237. Cochrane DR, Bernales S, Jacobsen BM, Cittelly DM, Howe EN, D'Amato NC, *et al.* Role of the androgen receptor in breast cancer and preclinical analysis of enzalutamide. *Breast Cancer Res* 2014;16:R7.
238. Denkert C, von Minckwitz G, Brase JC, Sinn BV, Gade S, Kronenwett R, *et al.* Tumor-infiltrating lymphocytes and response to neoadjuvant chemotherapy with or without carboplatin in human epidermal growth factor receptor 2-positive and triple-negative primary breast cancers. *J Clin Oncol* 2015;33:983-91.
239. Loi S, Sirtaine N, Piette F, Salgado R, Viale G, Van Eenoo F, *et al.* Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98. *J Clin Oncol* 2013;31:860-7.
240. Ali HR, Provenzano E, Dawson SJ, Blows FM, Liu B, Shah M, *et al.* Association between CD8+ T-cell infiltration and breast cancer survival in 12,439 patients. *Ann Oncol* 2014;25:1536-43.
241. Savas P, Salgado R, Denkert C, Sotiriou C, Darcy PK, Smyth MJ, *et al.* Clinical relevance of host immunity in breast cancer: from TILs to the clinic. *Nat Rev Clin Oncol.* 2015;15 (epub ahead of print).
242. Denkert C, Loibl S, Noske A, Roller M, Müller BM, Komor M, *et al.* Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:105-13.
243. Ono M, Tsuda H, Shimizu C, Yamamoto S, Shibata T, Yamamoto H, *et al.* Tumor-infiltrating lymphocytes are correlated with response to neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2012;132:793-805.
244. García-Tejido P, Luque M, Peláez N, Fernández Y. Tumor-infiltrating lymphocytes in triple negative breast cancer: future of immune targeting. *Clinical Medical insights: Oncology* (epub ahead of print).

245. Dushyanthen S, Beavis PA, Savas P, Teo ZL, Zhou C, Mansour M, *et al.* Relevance of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer. *BMC Med* 2015;13:202.
246. Dieci MV, Mathieu MC, Guarneri V, Conte P, Delaloge S, Andre F, *et al.* Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in two phase III randomized adjuvant breast cancer trials. *Ann Oncol* 2015;26:1698-704.
247. Ignatiadis M, Singhal SK, Desmedt C, Haibe-Kains B, Criscitiello C, Andre F, *et al.* Gene modules and response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer subtypes: a pooled analysis. *J Clin Oncol* 2012;30:1996-2004.
248. Schmidt M, Hellwig B, Hammad S, Othman A, Lohr M, Chen Z, *et al.* A comprehensive analysis of human gene expression profiles identifies stromal immunoglobulin κ C as a compatible prognostic marker in human solid tumors. *Clin Cancer Res* 2012;18:2695-703.
249. Dieci MV, Criscitiello C, Goubar A, Viale G, Conte P, Guarneri V, *et al.* Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes on residual disease after primary chemotherapy for triple-negative breast cancer: a retrospective multicenter study. *Ann Oncol* 2014;25:611-8.
250. Adams S, Gray RJ, Demaria S, Goldstein L, Perez EA, Shulman LN, *et al.* Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancers from two phase III randomized adjuvant breast cancer trials: ECOG 2197 and ECOG 1199. *J Clin Oncol* 2014;32:2959-66.
251. Ibrahim EM, Al-Foheidi ME, Al-Mansour MM, Kazkaz GA. The prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancer: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2014;148:467-76.
252. Loi S, Michiels S, Salgado R, Sirtaine N, Jose V, Fumagalli D, *et al.* Tumor infiltrating lymphocytes are prognostic in triple negative breast cancer and predictive for trastuzumab benefit in early breast cancer: results from the FinHER trial. *Ann Oncol* 2014;25:1544-50.
253. Pruneri G, Vingiani A, Bagnardi V, Rotmensz N, De Rose A, Palazzo A, *et al.* Clinical validity of tumor-infiltrating lymphocytes analysis in patients with triple-negative breast cancer. *Ann Oncol* 2015;23 (epub ahead of print).
254. Park IH, Kong SY, Ro JY, Kwon Y, Kang JH, Mo HJ, *et al.* Prognostic Implications of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Association With Programmed Death Ligand 1 Expression in Early-Stage Breast Cancer. *Clin Breast Cancer* 2016;16:51-8.
255. Wimberly H, Brown JR, Schalper K, Haack H, Silver MR, Nixon C, *et al.* PD-L1 Expression Correlates with Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer. *Cancer Immunol Res* 2015;3:326-32.

Bibliografía

256. Mittendorf EA, Philips AV, Meric-Bernstam F, Qiao N, Wu Y, Harrington S, *et al.* PD-L1 expression in triple-negative breast cancer. *Cancer Immunol Res* 2014;2:361-70.
257. Muenst S, Soysal SD, Gao F, Obermann EC, Oertli D, Gillanders WE. The presence of programmed death 1 (PD-1)-positive tumor-infiltrating lymphocytes is associated with poor prognosis in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2013;139:667-76.