



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

## ESTUDIO DEL GANGLIO CENTINELA POR MÉTODO MOLECULAR EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA Y AXILA CLÍNICAMENTE NEGATIVA QUE HAN RECIBIDO QUIMIOTERAPIA NEOADYUVANTE

Karla Peña Gonzalez

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

**WARNING.** Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

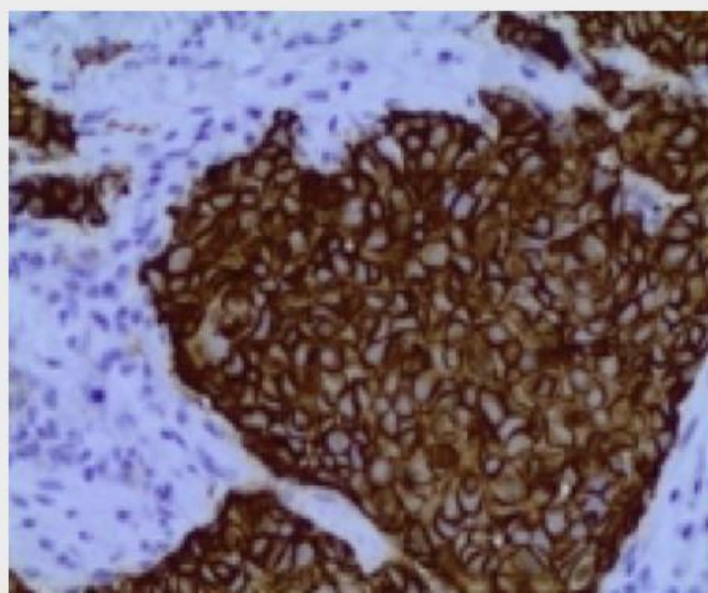
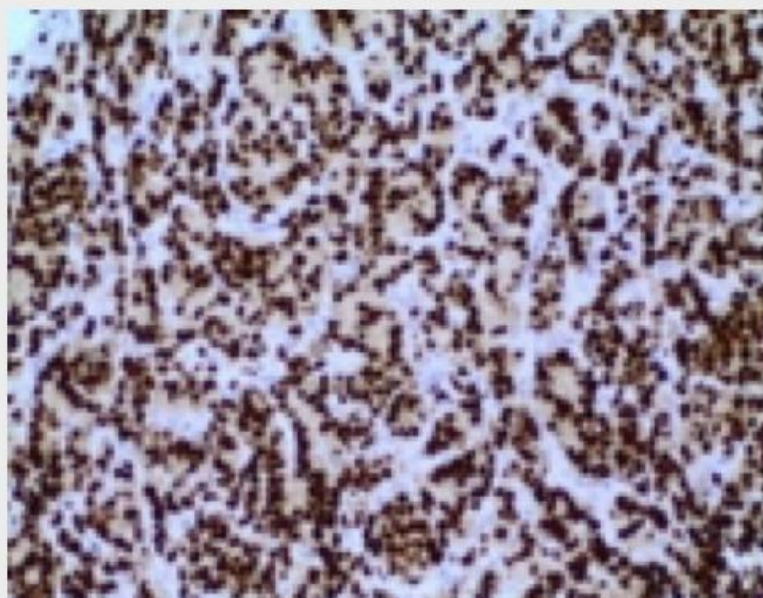


**UNIVERSITAT  
ROVIRA i VIRGILI**

**ESTUDIO DEL GANGLIO CENTINELA POR MÉTODO  
MOLECULAR EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA  
Y AXILA CLINICAMENTE NEGATIVA, QUE HAN  
RECIBIDO QUIMIOTERAPIA NEOADYUVANTE**

---

**KARLA BEATRIZ PEÑA GONZÁLEZ**



ESTUDIO DEL GANGLIO CENTINELA POR MÉTODO  
MOLECULAR EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA Y  
AXILA CLÍNICAMENTE NEGATIVA, QUE HAN RECIBIDO  
QUIMIOTERAPIA NEOADYUVANTE.

TESIS DOCTORAL

KARLA BEATRIZ PEÑA GONZÁLEZ



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

REUS

2018

“Estudio del ganglio centinela por método molecular en pacientes  
con cáncer de mama y axila clínicamente negativa, que han  
recibido quimioterapia neoadyuvante”

Karla Beatriz Peña González

Tesis doctoral para optar al grado de Doctor en Biomedicina

Dirigida por:

Dra. Meritxell Arenas Prat

Prof. Emilio Mayayo Artal



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Departamento de Ciencias Medicas Básicas

Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud

Universidad Rovira i Virgili

Reus, 2018

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI  
ESTUDIO DEL GANGLIO CENTINELA POR MÉTODO MOLECULAR EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA Y AXILA CLÍNICAMENTE NEGATIVA  
QUE HAN RECIBIDO QUIMIOTERAPIA NEOADYUVANTE  
Karla Peña Gonzalez



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FAIG CONSTAR que aquest treball, titulat "**Estudi del ganglio centinela per mètode molecular en pacients amb càncer de mama i aixella clínicament negativa que han rebut quimioteràpia neoadjuvan**", que presenta Karla Beatriz Peña González per a l'obtenció del títol de Doctor, ha estat realitzat sota la meva direcció al Departament de Ciències Mèdiques Bàsiques d'aquesta universitat.

---

HAGO CONSTAR que el presentetrabajo, titulado "**Estudio del ganglio centinela por método molecular en pacientes con cáncer de mama y axila clínicamente negativa que han recibido quimioterapia neoadyuvant**", que presenta Karla Beatriz Peña González para la obtención del título de Doctor, ha sido realizado bajo mi dirección en el Departamento de Ciencias Médicas Básicas de esta universidad.

---

I STATE that the present study, entitled "Study of sentinel lymph node by molecular method in patients with breast cancer and clinically negative axilla who have received neoadjuvant chemotherapy", presented by Karla Beatriz Peña González for the award of the degree of Doctor, has been carried out under my supervision at the Department of Basic Medical Sciences of this university.

---

Reus, 01 de julio de 2018

Els directors de la tesi doctoral  
Los directores de la tesis doctoral  
Doctoral Thesis Supervisors



Meritxell Arenas Prat



Emilio Mayayo Artal

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI  
ESTUDIO DEL GANGLIO CENTINELA POR MÉTODO MOLECULAR EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA Y AXILA CLÍNICAMENTE NEGATIVA  
QUE HAN RECIBIDO QUIMIOTERAPIA NEOADYUVANTE  
Karla Peña Gonzalez

“ El éxito es la capacidad de ir de fracaso en fracaso  
sin perder el entusiasmo.”

Winston Churchill



# **A**GRADECIMIENTOS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI  
ESTUDIO DEL GANGLIO CENTINELA POR MÉTODO MOLECULAR EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA Y AXILA CLÍNICAMENTE NEGATIVA  
QUE HAN RECIBIDO QUIMIOTERAPIA NEOADYUVANTE  
Karla Peña Gonzalez

Con estas breves líneas quisiera mostrar mi agradecimiento a todas aquellas personas que de alguna u otra manera han colaborado en la realización de este trabajo.

En primer lugar a los directores de tesis, a la Dra. Meritxell Arenas Prat por su inagotable entusiasmo, por mostrarme que todo es posible con constancia y esfuerzo. Al Dr. Emilio Mayayo Artal por su orientación en el camino de las formas, por compartir su experiencia y guiarme por este camino desconocido.

Al Dr. Francesc Riu, Director del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Sant Joan de Reus, por haberme permitido formar parte de su equipo y por la confianza puesta en mi, lo cual me ha permitido crecer profesional y personalmente.

Al Dr. David Parada Domínguez, por ser el mejor compañero que la vida pueda conceder, tu tenacidad y perseverancia son una constante motivación, sin tu ayuda no hubiera podido concluir esta labor.

A las técnicas del servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Sant Joan de Reus, por la dedicación a la hora de realizar las técnicas y por el empeño que ponen sin importar las veces que haya que repetir hasta lograr el resultado óptimo.

A mis padres por demostrarme que en esta vida nada es fácil, que las cosas se deben trabajar y a no desistir cuando las situaciones se tornan complicadas.

A Dios todo poderoso porque es la mano que guía mis pasos.

**Gracias a todos.**

# RESUMEN

## **RESUMEN**

### **ANTECEDENTES:**

El cáncer de mama es el tumor más frecuente en las mujeres occidentales, con una incidencia en aumento a un ritmo del 2% anual con tendencia a la estabilización, observándose un continuo descenso en la mortalidad y un aumento en la sobrevida libre de la enfermedad a los 5 años del diagnóstico. Esta disminución de la mortalidad es debida principalmente al diagnóstico precoz y a los avances en el tratamiento quirúrgico y oncológico.

En las últimas décadas se ha reconocido y estudiado la heterogeneidad de los carcinomas de mama, y mediante el uso de análisis de la expresión génica, se han podido identificar varios subtipos moleculares, con diferente resistencia y/o sensibilidad a terapias específicas, invasividad o potencial metastásico. Se han identificado 2 grupos principales basados en la expresión de los receptores de estrógenos. Los tumores que expresan estos receptores son denominados de subtipo Luminal (A y B), mientras que en el grupo con expresión negativa están incluidos los tumores que expresan el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER-2) y los de tipo células basales (triple negativo). Aunque el estándar de oro para la identificación de los subtipos moleculares sigue siendo el análisis de la expresión génica, en la práctica clínica diaria se ha adaptado el uso de marcadores inmunohistoquímicos para identificarlos de manera rutinaria.

Con respecto al tratamiento de esta neoplasia, la quimioterapia neoadyuvante (QNA) se ha utilizado ampliamente para tratar el cáncer de mama. Entre sus ventajas se encuentra reducir el tamaño tumoral para aumentar las tasas de cirugías conservadoras, la identificación temprana de tumores que no responden a la terapia específica, dando la oportunidad de cambiar a un régimen alternativo, entre otras. La respuesta de un tumor

al tratamiento sistémico se mide mediante la respuesta patológica completa (RPC), la cual se relaciona con un incremento en la supervivencia a largo plazo.

Por otro lado, el estado de los ganglios linfáticos axilares continúa siendo el factor pronóstico más importante para las pacientes con cáncer de mama en estadio temprano.

La biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC) se admite actualmente como una técnica estándar en el tratamiento quirúrgico del cáncer de mama con el objetivo de evitar linfadenectomías axilares innecesarias a la hora de estadificar la enfermedad, disminuyendo así la morbilidad que este procedimiento conlleva. Sin embargo, continúa siendo un punto de controversia si la BSGC es útil en pacientes que han recibido quimioterapia previa.

La gran ventaja de la implementación de un método molecular para realizar dicho análisis, es conseguir resultados definitivos en el tiempo intraoperatorio. Debido a que el procedimiento estándar para aquellas pacientes con el ganglio centinela (GC) positivo después de recibir tratamiento sistémico es la disección axilar (DA), el diagnóstico de estos ganglios de forma intraoperatoria es fundamental en estas enfermas, ya que pueden someterse a una linfadenectomía dentro de la misma cirugía, evitando los inconvenientes de una segunda intervención a causa de resultados intraoperatorios falsos negativos del GC por métodos histológicos convencionales.

### **OBJETIVO:**

Analizar el resultado del estudio por un método molecular de los GC en pacientes con cáncer de mama invasivo y axila clínicamente negativa, que han recibido QNA.

## **MATERIALES Y MÉTODOS:**

Se trató de un estudio de cohorte retrospectivo y descriptivo, basado en el análisis de pacientes diagnosticadas de cáncer de mama invasivo estadios cT2-cT3 cN0, las cuales fueron sometidas a QNA y posteriormente a cirugía con BSGC analizado por el método de OSNA en el Hospital Universitario Sant Joan de Reus, en el periodo comprendido entre Febrero del 2011 y Febrero del 2018. De la base de datos del servicio de Anatomía Patológica se obtuvo la siguiente información: el grado y el tipo histológico tumoral, la respuesta patológica del tumor a la QNA, el número total de GC obtenidos, el tipo de metástasis, el número de copias de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de citoqueratina 19 interpretadas como la carga tumoral total y el estado de los ganglios axilares no centinelas de aquellas pacientes a las cuales se les realizó la DA.

El subtipo molecular intrínseco del tumor subrogado al uso de la inmunohistoquímica, se determinó tomando en cuenta los parámetros expresados en los informes de la biopsia con aguja previa al tratamiento neoadyuvante.

## **RESULTADOS:**

El estudio incluyó 92 pacientes con edades comprendidas entre 32 y 79 años. El subtipo tumoral intrínseco más observado fue el Luminal B (61,96%), seguido del triple negativo (TN) (19,56%), HER-2 enriquecido (15,22%) y el Luminal A (3,26%). La respuesta patológica del tumor al tratamiento sistémico fue parcial en 59 casos (65,22%), completa en 28 (30,44%) y no se observó respuesta en 5 casos (4,35%). De acuerdo a lo subtipos intrínsecos, el 78,57% de los tumores HER-2 enriquecido, el 44,44% de los TN, el

14,04% de los Luminal B y el 33,33% de los Luminal A presentaron una respuesta completa.

El GC fue negativo en 54 (58,70%) pacientes y positivo en 38 (41,30%). El tipo de metástasis más observada fue la micrometástasis (63,16%), seguida de la macrometástasis (23,68%) y las células tumorales aisladas (13,16%). En 6 de las pacientes con DA y GC positivo se hallaron más ganglios axilares no centinelas positivos. Todas ellas presentaron tumores del subtipo Luminal B con una respuesta patológica parcial.

### **CONCLUSIÓN:**

Nuestros resultados evidencian que la BSGC posterior a la QNA es un procedimiento factible y preciso para estadificar la axila en paciente con ganglios axilares clínicamente negativos al inicio. El uso de un método molecular para el estudio del GC permite resultados definitivos en tiempo intraoperatorio. Las pacientes que presentan el GC positivo pero muestran una RPc en la mama pueden tener una baja probabilidad de presentar mas ganglios no centinelas afectados en la axila.

### **PALABRAS CLAVE:**

Cáncer de mama, quimioterapia neoadyuvante, ganglio centinela.



## **ABSTRACT**

### **BACKGROUND:**

Breast cancer is the most frequent tumor in Western women, with an increasing incidence at a rate of 2% per year with a tendency towards stabilization, with a continuous decrease in mortality and an increase in the free survival of the disease at 5 years of diagnosis. This decrease in mortality is mainly due to early diagnosis and advances in surgical and oncological treatment.

In the last decades the heterogeneity of breast carcinomas has been recognized and studied, and through the use of gene expression analysis, several molecular subtypes have been identified, with different resistance and / or sensitivity to specific therapies, invasiveness or potential metastatic. Two main groups have been identified based on the expression of estrogen receptors. Tumors that express these receptors are called Luminal subtype (A and B), while in the group with negative expression are included tumors that express the human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2) and those of cell type basal (triple negative). Although the gold standard for the identification of molecular subtypes continues to be the analysis of gene expression, in daily clinical practice the use of immunohistochemical markers has been adapted to identify them routinely.

Neoadjuvant chemotherapy (NAC) has been widely used to treat breast cancer. Among its advantages is reducing tumor size to increase the rates of conservative surgeries, early identification of tumors that do not respond to specific therapy, giving the opportunity to change to an alternative regimen, among others. The response of a tumor to systemic treatment is measured by the complete pathological response (cPR), which is related to an increase in long-term survival.

The status of axillary lymph nodes continues to be the most important prognostic factor for patients with early-stage breast cancer. Selective biopsy of the sentinel lymph node (SLNB) is currently accepted as a standard technique in the surgical treatment of breast cancer with the aim of avoiding unnecessary axillary lymph node dissection (ALND) when staging the disease, thus reducing the morbidity that this procedure entails. However, it remains a point of controversy if SNB is useful in patients who have received prior chemotherapy.

The great advantage of the implementation of a molecular method to perform such analysis, is to achieve definitive results in the intraoperative time. Because the standard procedure for patients with positive SLN after receiving systemic treatment is ALND, the diagnosis of these lymph nodes intraoperatively is essential in these patients, since they can undergo a lymphadenectomy within the same surgery, avoiding the drawbacks of a second intervention because of false negative intraoperative results by conventional histological methods.

### **OBJECTIVE:**

To analyze the result of the study by a molecular method of SLN in patients with invasive breast cancer and clinically negative axilla, who have received NAC.

### **MATERIALS AND METHODS:**

It was a retrospective and descriptive cohort study, based on the analysis of patients diagnosed with invasive breast cancer stages cT2-cT3 cN0, which were submitted to NAC and later to surgery with SLNB by the OSNA method in the University Hospital Sant Joan de Reus, in the period from February 2011 to February 2018. From the database

of the Pathology department, data were collected such as the tumor grade, the histological type, the pathological response of the tumor to the NAC, the total number of SLN obtained, the type of metastasis, the number of acid copies ribonucleic messenger (mRNA) of cytokeratin 19 interpreted as the total tumor burden and the status of the axillary no SLN of those patients who underwent ALND.

The intrinsic subtype of the tumor subrogated to the use of immunohistochemistry was determined taking into account the parameters expressed in the reports of the needle biopsy prior to the neoadjuvant treatment.

## **RESULTS:**

The study included 92 patients aged between 32 and 79 years. The most observed intrinsic tumoral subtype was Luminal B (61.96%), followed by triple negative (TN) (19.56%), enriched HER-2 (15.22%) and Luminal A (3.26%). The pathological response of the tumor to systemic treatment was partial in 59 cases (65.22%), complete in 28 (30.44%) and no response was observed in 5 cases (4.35%). According to the intrinsic subtypes, 78.57% of the enriched HER-2 tumors, 44.44% of the TNs, 14.04% of the Luminal B and 33.33% of the Luminal A tumors presented a complete response.

The SLN was negative in 54 (58.70%) patients and positive in 38 (41.30%). The most observed type of metastasis was micrometastasis (63.16%), followed by macrometastasis (23.68%) and isolated tumor cells (13.16%). In 6 of the patients with ALND and positive SLN, more axillary no SLN were found. All of them presented tumors of the Luminal B subtype with a partial pathological response.

## **CONCLUSION:**

Our results show that SLNB after NAC is a feasible and precise procedure for staging the axilla in a patient with clinically negative axillary nodes at the beginning. The use of a molecular method to study the SLN allows definitive results in intraoperative time. Patients who present positive SLN but show an cPR in the breast may have a low probability of presenting more no SLN affected in the axilla.

## **KEY WORDS:**

Breast cancer, neoadjuvant chemotherapy, sentinel lymph node.

# ÍNDICE DE CONTENIDO



## **Índice de contenido**

<b>1. ABREVIATURAS</b>	<b>9</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN</b>	<b>13</b>
2.1 Epidemiología	13
2.2 Etiología	15
2.3 Diagnóstico del cáncer de mama	21
2.3.1 Exploración clínica	21
2.3.2 Estudio por imágenes del cáncer de mama	21
2.3.3 Diagnóstico histopatológico	22
2.3.4 Clasificación histopatológica de los carcinomas de mama	23
2.3.5 Utilidad inmunohistoquímica en el cáncer de mama	28
2.4 Clasificación molecular del cáncer de mama	30
2.4.1 Clasificación del cáncer de mama en subtipos intrínsecos usando inmunohistoquímica	33
2.5 Manejo del cáncer de mama	35
2.5.1 Manejo quirúrgico	35
2.5.2 Tratamiento sistémico	37
2.5.3. Terapia hormonal	40
2.5.4 Papel de la radioterapia en el cáncer de mama	41
2.6 Manejo de la axila en el cáncer de mama	42
2.6.1 Historia del ganglio centinela	43
2.6.2 Indicación de la BSGC	45
2.6.3. Estudio anatomopatológico del ganglio centinela	46
2.6.4 Análisis del ganglio centinela por método molecular	48
2.6.5 Biopsia selectiva del ganglio centinela posterior a la neoadyuvancia	49

<b>3. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>55</b>
<b>4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>	<b>59</b>
4.1 Hipótesis del trabajo	59
4.2 Objetivo general	60
4.2.1 Objetivos específicos	61
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>65</b>
5.1 Tipo de estudio	65
5.2 Selección de la muestra	65
5.3 Estudio clínico	66
5.4 Estudio histopatológico	67
5.5 Detección del ganglio centinela	68
5.6 Evaluación intraoperatoria del ganglio centinela con el método de OSNA	69
5.7 Análisis de datos	72
<b>6. RESULTADOS</b>	<b>75</b>
6.1 Análisis clínico y patológico	75
6.1.1 Distribución por edades	75
6.1.2 Grado y tipo histológico	75
6.1.3 Subtipo tumoral intrínseco según el sistema IHQ-4	78
6.1.4 Clasificación histológica y subtipos intrínsecos	78
6.1.5 Procedimiento quirúrgico realizado	80
6.1.6 Respuesta patológica del tumor al tratamiento sistémico	80
6.1.7 Características de los ganglios centinelas	86
6.1.8 Resultados del análisis del ganglio centinela por el método de OSNA	87



6.1.8a Características de los ganglios centinela positivos	88
6.1.8b Características de las pacientes con ganglio centinela positivo	89
6.1.8c Características de las pacientes con ganglio centinela negativo	93
6.1.9 Cálculo de la carga tumoral total	95
6.1.10 Disección axilar	95
6.1.10a Pacientes con ganglio centinela positivo sin disección axilar	96
6.1.10b Pacientes con ganglio centinela positivo y disección axilar positiva	97
6.1.10c Pacientes con ganglio centinela positivo y disección axilar negativa	98
6.1.11 Seguimiento de las pacientes	103
<b>7. DISCUSIÓN</b>	<b>111</b>
<b>8. CONCLUSIONES</b>	<b>127</b>
<b>9. ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>131</b>
<b>10. ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICAS</b>	<b>135</b>
<b>11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>139</b>



# **1. ABREVIATURAS**



## **1. ABREVIATURAS**

<b>ADN:</b>	Acido Desoxiribonucléico.
<b>AJCC:</b>	American Joint Committee.
<b>ARNm:</b>	Acido ribonucléico mensajero.
<b>ASCO:</b>	Sociedad americana de oncólogos clínicos.
<b>A-T:</b>	Síndrome de ataxia-telangiectasia.
<b>ATM:</b>	Gen de la ataxia-telangiectasia.
<b>BI-RADS:</b>	Breast imaging reporting and data system.
<b>BRCA1:</b>	Gen breast cancer 1.
<b>BRCA2:</b>	Gen breast cancer 2.
<b>BSGC:</b>	Biopsia selectiva del ganglio centinela.
<b>CAP:</b>	Colegio Americano de Patólogos.
<b>CC:</b>	Cirugía conservadora.
<b>CDH1:</b>	Gen cadherin 1.
<b>CK:</b>	Citoqueratina.
<b>CTA:</b>	Células tumorales aisladas.
<b>CTE:</b>	Carcinoma de tipo especial.
<b>CTNE:</b>	Carcinoma de tipo no especial.
<b>CTT:</b>	Carga tumoral total.
<b>DA:</b>	Dissección axilar.
<b>FN:</b>	Falso negativo.
<b>GC:</b>	Ganglio centinela.
<b>HER-2:</b>	Human epidermal receptor 2.
<b>IHQ:</b>	Inmunohistoquímica.

<b>LKB1:</b>	Liver quinasa B1.
<b>MP:</b>	Mastectomía profiláctica.
<b>MT:</b>	Metástasis.
<b>OMS:</b>	Organización Mundial de la Salud.
<b>OSB:</b>	Ooforosalingectomía bilateral.
<b>OSNA:</b>	One step nucleic acid amplification.
<b>PAF:</b>	Punción por aguja fina.
<b>PJS:</b>	Síndrome de Peutz-Jeghers.
<b>PTEN:</b>	Gen fosfatasa tensina.
<b>QNA:</b>	Quimioterapia neoadyuvante.
<b>RE:</b>	Receptor de estrógeno.
<b>RH:</b>	Receptores hormonales.
<b>RM:</b>	Resonancia magnética.
<b>RP:</b>	Receptor de progesterona.
<b>RPc:</b>	Respuesta patológica completa.
<b>RPp:</b>	Respuesta patológica parcial.
<b>SG:</b>	Supervivencia global.
<b>SISH:</b>	Hibridación in situ.
<b>SLE:</b>	Supervivencia libre de enfermedad.
<b>SM:</b>	Subtipo molecular.
<b>STK11:</b>	Serine threonine kinase 11.
<b>TFN:</b>	Tasa de falsos negativos.
<b>TN:</b>	Triple negativo.
<b>TNM:</b>	Tumor Node Metastasis.
<b>TS:</b>	Tratamiento sistémico.

## **2. INTRODUCCIÓN**





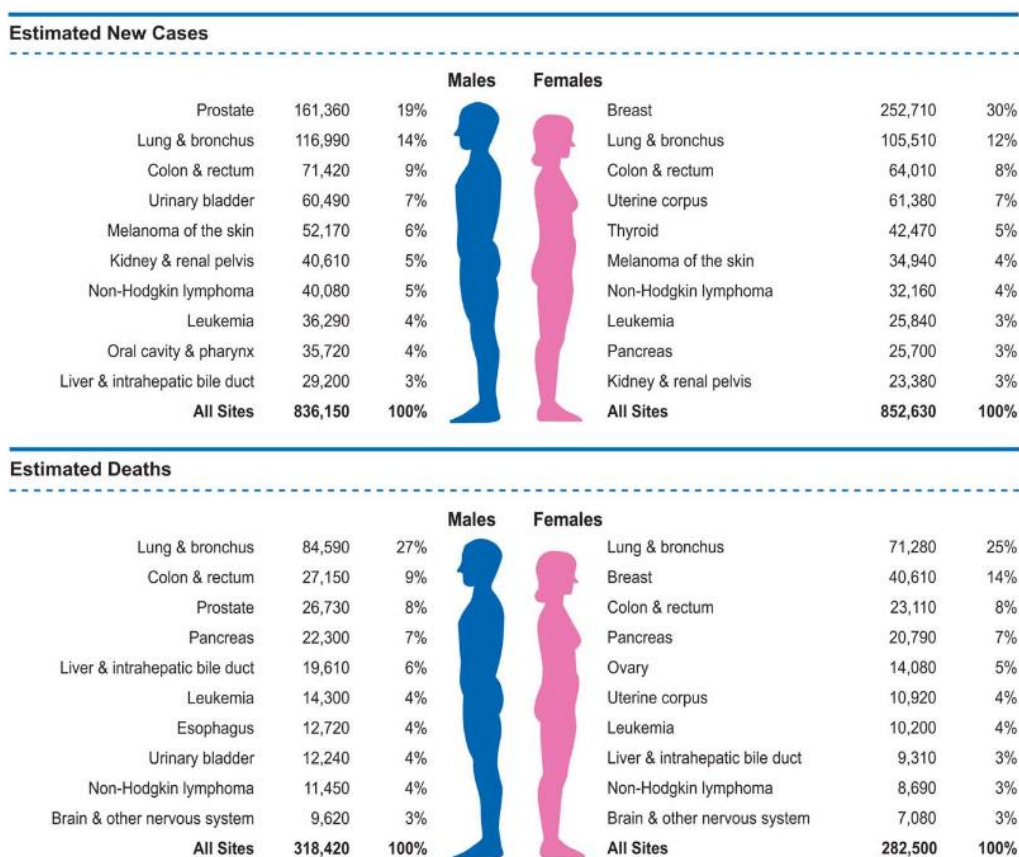
## **2. INTRODUCCIÓN**

### **2.1 EPIDEMIOLOGÍA**

El cáncer de mama es el tipo de cáncer más frecuente en las mujeres, si obviamos los cánceres de piel no melanomas, tanto en países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo. Representa el 23% de todos los cánceres en mujeres a nivel mundial y el 27% en los países desarrollados, en los cuales es dos veces más común que el cáncer en cualquier otra localización (1). La incidencia de cáncer de mama, como en la mayoría de los tumores epiteliales, aumenta rápidamente con la edad. Las áreas de alto riesgo son las poblaciones ricas de Australia, Europa y América del Norte, donde el 6% de las mujeres desarrollan cáncer de mama invasivo antes de los 75 años, mientras que el riesgo es más bajo en las regiones menos desarrolladas de Asia meridional y oriental, incluido Japón, donde la probabilidad de desarrollar cáncer de mama a la edad de 75 años es un tercio del de los países ricos (2).

Cada año la Sociedad Americana del Cáncer estima el número de nuevos casos de cáncer y muertes por su causa en los Estados Unidos y compila los datos más recientes sobre la incidencia, mortalidad y supervivencia del cáncer. Para el año 2018, basados en proyecciones modeladas, el cáncer de mama continúa siendo la neoplasia más frecuente en las mujeres y la segunda causa de muerte por cáncer después del cáncer de pulmón ( **Figura 1**) (3).

**Figura 1. Diez principales tipos de cáncer y muertes por sexo en Estados Unidos para el 2018 (3).**



En Europa el panorama no es diferente, para el año 2012 el cáncer de mama fue el principal cáncer en las mujeres en toda Europa con un patrón geográfico claro. Se estimaron altas tasas de incidencia en los países de Europa occidental, especialmente en Bélgica, Francia y los Países Bajos, en comparación con Países de Europa del Este como Ucrania y Moldavia. Es posible que estas variaciones observadas en la incidencia del cáncer de mama en estos países se deba a diferencias en las actividades de cribado y/o a los diferentes factores de riesgo asociados a esta neoplasia (paridad, edad del primer embarazo, etc) (4).

En España representa el 30% de todos los tumores femeninos, con una incidencia del 29%, una tasa de mortalidad del 15,5% y una prevalencia a 5 años del 40,8%. La mayoría de los casos se diagnostican en edades comprendidas entre los 35 y los 80 años, con un máximo entre los 45 y los 65 años. Se estima que aproximadamente 1 de cada 8 mujeres presentará esta enfermedad a lo largo de su vida, además, supone la primera causa de mortalidad por cáncer en mujeres con 6.200 fallecimientos en el año 2012 (5).

En las comarcas de Tarragona, para el año 2013, se esperaron 457 nuevos casos con una tasa de incidencia de 67,9 por cada 100.000 mujeres y año. Las tasas de incidencia aumentaron un 2,1% anual entre 1982 y 2003, y en los últimos años parece haber existido una tendencia a la estabilización o al descenso, probablemente debido a una saturación en la incidencia producida por el cribado o a algún otro factor. Con respecto a la mortalidad, a partir de los años 80, esta ha mostrado una tendencia a la disminución del 2,5% anual, mientras que la supervivencia relativa a los 5 años ha ido en aumento de una forma gradual en los últimos 20 años, probablemente debido el uso de métodos para la detección temprana y actualmente se calcula en un 83% (6).

## **2.2 ETIOLOGÍA**

En el desarrollo del cáncer de mama intervienen múltiples factores, entre los cuales se encuentran la dieta, factores hormonales, reproductivos, hereditarios, entre otros. Las causas que producen un cáncer de mama todavía no están aclaradas, sin embargo, sí se han identificado numerosos factores de riesgo asociados al desarrollo del mismo. La mayor parte de los ellos se relaciona con los antecedentes reproductivos que modulan la exposición hormonal durante la vida, pero más que en la mayoría de otras neoplasias, el cáncer de mama muestra una predisposición hereditaria (7). Las mujeres con antecedentes

familiares de cáncer de mama tienen más riesgo de padecerlo. Se ha determinado que aproximadamente el 10% de los casos de cáncer de mama están relacionados con factores hereditarios, y que el riesgo es mayor si se trata de un familiar de primer grado (madre, hermana o hija) (8).

En los casos de cánceres familiares se han detectado mutaciones en más de 25 genes, entre los cuales se encuentran el gen breast-cancer-1 (BRCA1), localizado en el cromosoma 17q, y el gen breast-cancer-2 (BRCA2) localizado en el cromosoma 13q (8,9), encargados de producir proteínas que ayudan a reparar los daños en el ácido desoxirribonucleico (ADN), asegurando la estabilidad en el material genético celular. A las mutaciones del gen BRCA1 y BRCA2 se les atribuyen un alto porcentaje de los casos de cáncer hereditario de mama y ovario, juntas representan del 25 al 28% de los cánceres de mama hereditarios y del 5 al 10% de todos los cánceres de mama (10,11). Se ha estimado que el riesgo absoluto de carcinoma de mama a los 70 años de edad, conferido por una mutación BRCA1/2 está entre el 45% y 65% (12), además los carcinomas de mama que se desarrollan con mutaciones del gen BRCA1 son por lo general de alto grado y están asociados a un peor pronóstico (12,13).

Desde el descubrimiento inicial de que las alteraciones de la línea germinal en BRCA1/2 aumentan la susceptibilidad al cáncer de mama y ovario, se han descubierto genes adicionales cuyas mutaciones también están relacionados con el aumento en este riesgo, como lo son TP53, PTEN, ATM, STK11 y CDH1, identificados como los genes de alta y moderada penetrancia que confieren un mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama, después de BRCA1/2 (14).

La mutación localizada en el brazo corto del cromosoma 17, el cual contiene el gen de la proteína p53 (TP53), es la causante del Síndrome de Li-Fraumeni (15,16). Este síndrome se presenta con un amplio espectro de tumores malignos como osteosarcomas, cáncer de mama, sarcomas de partes blandas y leucemias. Estas neoplasias aparecen a edades tempranas, en el 50% de los individuos antes de los 30 años (17,18). Además, se ha señalado que la mutación de la p53 caracteriza una forma altamente agresiva de cáncer de mama, asociada a un mal pronóstico tanto en los casos con ganglios axilares positivos como en los casos con ganglios axilares negativos (19,20).

El gen fosfatasa-tensina (PTEN) es un gen supresor de tumores localizado en el cromosoma 10 (10q23). La proteína codificada por este gen es una fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato 3-fosfatasa y se encarga de favorecer la apoptosis. Cuando está mutado es responsable de causar distintos desordenes neoplásicos y no neoplásicos, entre estos últimos se halla el síndrome de Cowden (21,22). Cabe destacar que PTEN se encuentra desactivado en algunos tumores malignos incluyendo al cáncer de mama y está presente en un 4% de los carcinomas mamarios hereditarios (23,24).

Las mutaciones en la línea germinal del gen de la ataxia telangiectasia (ATM) dan como resultado el síndrome de ataxia telangiectasia (A-T), que se manifiesta con una mayor predisposición al cáncer, entre los que se encuentra el de mama (25). El gen ATM está localizado en el cromosoma 11 (11q22) y desempeña un papel importante en la reparación del ADN, al presentar daños inducidos por radiación ionizante, fármacos de quimioterapia o estrés oxidativo, o que ocurren durante eventos fisiológicos normales como la recombinación meiótica (26). La radiosensibilidad es también un sello distintivo del síndrome A-T (27), por lo cual, en estos pacientes está contraindicado el uso de

radioterapia. Sin embargo, las mutaciones heterocigotas de la línea germinal aparentemente no contribuyen a los cánceres secundarios después de la terapia con radiaciones ionizantes (28). De forma similar, la toxicidad de la quimioterapia sistémica puede incrementarse en pacientes con mutaciones heterocigóticas, aunque de forma moderada (29).

La proteína serina / treonina quinasa 11 (STK11) está codificada por un gen supresor de tumores, el STK11 también conocido como LKB1 (Liver Kinasa B1) y su pérdida o mutación se ha detectado en varias neoplasias (30). Las mutaciones de líneas germinales de STK11 dan lugar al síndrome de Peutz-Jeghers (PJS), un síndrome caracterizado por la predisposición a la poliposis gastrointestinal, a la pigmentación mucocutánea de melanina y a la susceptibilidad al cáncer de múltiples órganos, incluyendo a la mama (31). Los pacientes con PJS, tienen en un 45% mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama, en comparación con la población sana (32,33), adicionalmente se ha determinado que LKB1 esta mutado en el 30% de los cánceres esporádicos de la mama (34).

La E-cadherina es una glicoproteína transmembrana codificada por el gen cadherin 1 (CDH1), la cual desempeña un papel importante en la adhesión celular de los tejidos epiteliales (35). Este gen se encuentra en el cromosoma 16 (16q22), y su alteración se traduce en una expresión reducida de E-cadherina, lo cual se correlaciona con metástasis, disminución de la supervivencia libre de enfermedad y mal pronóstico. Lo anterior se ha podido evidenciar en una variedad de cánceres, incluyendo el cáncer de mama (36), especialmente en el carcinoma lobulillar. Diferentes estudios han demostrado que existe pérdida de la expresión de esta proteína en el 84% de este tipo de carcinomas (37).

Es bien conocida la asociación existente entre el cáncer de mama y las hormonas tanto endógenas como exógenas. Los factores reproductivos que aumentan la exposición a los estrógenos endógenos, como lo son la aparición temprana de la primera menstruación, ser nulípara, haber tenido pocos hijos, primer embarazo a una edad tardía (38,39) y la menopausia tardía, aumentan el riesgo de cáncer de mama, al igual que lo hace el uso de la terapia hormonal sustitutiva después de la menopausia, en la cual se utiliza una combinación de las hormonas estrógeno y progesterona (40).

La relación entre la obesidad y el riesgo de cáncer de mama así como su pronóstico es compleja, con asociaciones que difieren dependiendo de si se trata de mujeres pre o postmenopáusicas (41). El cáncer de mama es una enfermedad asociada con el envejecimiento con un riesgo más alto después de la menopausia. Los individuos que tienen sobrepeso u obesidad en sus años jóvenes probablemente seguirán teniendo sobrepeso u obesidad a medida que envejecen (42), por lo tanto no es sorprendente que una alta proporción de las mujeres postmenopáusicas diagnosticadas con cáncer de mama tengan sobrepeso u obesidad (43). Una mayor adiposidad se asocia con niveles adversos de factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1), marcadores inflamatorios y hormonas sexuales, los cuales pueden promover el desarrollo y el crecimiento de tumores (44). Diversos estudios han demostrado que la obesidad y el sobrepeso están relacionados con el 10% de los cánceres de mama en las mujeres postmenopáusicas (45) y que la pérdida de peso después de la menopausia está asociada con una reducción en el riesgo. Mujeres que han perdido 10 Kg. o más y se han mantenido en el peso, han tenido una reducción del 40% en el riesgo de sufrir cáncer de mama (46).

Como la obesidad es un factor de riesgo importante de recidiva y de morbilidad del carcinoma mamario (47,48), se han llevado a cabo investigaciones dirigidas a la reducción en el peso corporal a través de la dieta combinada y el ejercicio, demostrando que altos niveles de actividad física se asocian con una disminución en el riesgo, además, este beneficio es independiente de la raza y de la etnia (49,50).

Con respecto a la nutrición, existen evidencias que dietas con altos consumos de carnes, particularmente rojas y procesadas, se asocian a un incremento en el riesgo de padecer cáncer de mama (51,52), sin embargo no existen estudios que demuestren que mujeres con unos patrones de dieta poco saludables presenten un incremento del riesgo (53–55). A pesar de esto, hay trabajos que hacen hincapié en que la reducción de la densidad energética de la dieta limitando porciones de alimentos densos en energía, como aquellos con alto contenido de grasa y azúcar, además de aumentar la ingesta de alimentos de baja densidad energética, como verduras y frutas pueden estar asociados con una reducción en el riesgo de padecer esta enfermedad (56–58).

Muchos estudios han investigado la relación existente entre el alcohol y el cáncer de mama. El consumo de alcohol se ha visto asociado con un moderado incremento en el riesgo de tener este cáncer, incluso con bajos niveles de consumo (59–61). Sin embargo, otros estudios han mostrado un efecto protector a bajas dosis (62,63). De la misma manera, el hábito de fumar se ha relacionado con el incremento de este riesgo (64). Estudios publicados en los cuales se evalúa el tabaquismo y el cáncer de mama sugieren que los fumadores activos y pasivos tienen un mayor riesgo de padecer esta enfermedad en comparación con las mujeres que nunca han sido activa o pasivamente expuestas al tabaco (65).



## **2. 3 DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER DE MAMA**

### **2.3.1 EXPLORACIÓN CLÍNICA**

El primer signo de sospecha ante el cáncer de mama debe venir de la exploración física y de la detección de cambios y lesiones de nueva aparición que puedan orientar al diagnóstico. Clínicamente, el carcinoma de mama se puede presentar como una masa palpable que puede ir acompañada de cambios en la forma y en el tamaño de la mama, retracción y/o secreción a través del pezón, y con alteraciones en la coloración y textura de la piel circundante (66). La determinación de si una anomalía palpable es maligna o benigna puede ser difícil, especialmente en mujeres premenopáusicas. En general, si se determina que una masa palpable es sospechosa, se requiere un estudio por imágenes y un diagnóstico histológico (67).

### **2.3.2 ESTUDIO POR IMAGEN EN EL CÁNCER DE MAMA**

El diagnóstico por imagen de una masa en la glándula mamaria incluye el uso de diferentes técnicas como son la mamografía, la ultrasonografía, la resonancia magnética (RM) o la combinación entre ellas (68) El empleo de una u otra técnica, o la sucesión de varias está determinado por el escenario clínico en el cual nos encontremos y debe ser consensuada y estar acorde a los protocolos establecidos en cada centro.

La mamografía es el método más eficaz en la detección de malignidades ocultas, por esta razón es el método de elección en los programas ordinarios de cribado para la detección precoz del cáncer de mama (69). Con el fin de unificar criterios y establecer un lenguaje común para referirse a las lesiones que asientan en la mama, se ha desarrollado el sistema BI-RADS (Breast Imaging Reporting and Data System). Este es un sistema de

categorización de las lesiones mamarias en función del grado de sospecha de malignidad en el que cada categoría implica una recomendación para el seguimiento de las lesiones o el procedimiento a seguir (**Tabla 1**).

**Tabla 1. Clasificación del Sistema de Informes y Registro de datos de Imágenes de la Mama BI-RADS.**

<b>BIRADS 0:</b> Estudio incompleto.
<b>BIRADS 1:</b> Examen normal.
<b>BIRADS 2:</b> Hallazgos benignos.
<b>BIRADS 3:</b> Hallazgos muy probablemente benignos, pero que requieren control en un intervalo corto, a los seis meses. Posibilidad de malignidad de 5%.
<b>BIRADS 4 (A,B,C):</b> Hallazgos que hacen sospechar al radiólogo la posibilidad de un cáncer, por lo cual es necesario una biopsia. Sospecha baja (A), intermedia (B) o alta (C).
<b>BIRADS 5:</b> Hallazgos altamente sugerentes de cáncer. Biopsia indispensable. Posibilidad de malignidad mayor a 95% .
<b>BIRADS 6:</b> Paciente con cáncer de mama diagnosticado por biopsia, aún no tratada quirúrgicamente.

Los objetivos de la mamografía diagnóstica para los pacientes con síntomas en la mama son diferentes de los objetivos de la detección precoz. Las mujeres que cumplen los criterios para el cáncer de mama hereditario también deben ser consideradas para un cribado adicional, en el cual se incluye el uso de la RM y de la ecografía. La RM parece ser la técnica más sensible para el cribado de estas mujeres (70).

### 2.3.3 DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO

El estudio histológico es indispensable para la confirmación de una neoplasia maligna de la mama. En el informe anatomopatológico deben estar representados los factores clínico-patológicos asociados con la supervivencia, como son el tamaño y el grado tumoral, la afectación de los ganglios linfáticos, el estado de los márgenes quirúrgicos, la

invasión angiolinfática y/o perineural y los biomarcadores biológicos predictivos, como se explicará a continuación (71).

#### 2.3.4 CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA DE LOS CARCINOMAS DE MAMA.

Existen diferentes clasificaciones del cáncer de mama dependiendo de los criterios empleados para ello, de esta manera encontramos la clasificación clínica según el TNM (Tumor-Node-Metastasis), la clasificación anatomopatológica (basada en el tipo de célula y su disposición arquitectural) y la clasificación molecular (basada en las características propias e inherentes a cada tumor).

De forma tradicional este tumor se clasifica sobre la base de las características morfológicas, que identifican el patrón de crecimiento del tumor dando lugar a los "tipos histológicos". Así tenemos a los carcinomas de tipo no especial (CTNE) y a los carcinomas de tipo especial (CTE) (**Tabla 2**). El tipo histológico más común del carcinoma de mama es el CTNE, antiguamente llamado carcinoma ductal invasivo no de otro modo especificado (CDI-NOS) (2). Este subtipo representa aproximadamente del 60% al 75% de todos los carcinomas de la mama y es un diagnóstico de exclusión, comprendiendo carcinomas que no presentan características suficientes para justificar su clasificación en uno de los tipos especiales.

**Tabla 2. Tipos histológicos del cáncer de mama según la última edición de la clasificación de tumores de la Organización Mundial de la Salud (OMS), 4ta edición (2).**

<p><b>TIPO NO ESPECIAL</b> (carcinoma ductal infiltrante no de otra forma especificado)</p>	<p><b>TIPO ESPECIAL</b>                  Carcinoma lobulillar invasivo                  Carcinoma tubular                  Carcinoma cribiforme                  Carcinoma metaplásico                  Carcinoma con diferenciación apocrina                  Carcinoma de tipo glándulas salivales y de anexos de la piel                  Carcinoma adenoideo-quístico                  Carcinoma mucoepidermoide                  Carcinoma polimorfo                  Carcinoma mucinoso y carcinoma con células en anillo de sello                  Carcinoma con diferenciación neuroendocrina                  Carcinoma papilar invasivo                  Carcinoma micropapilar invasivo                  Carcinoma inflamatorio</p>
---	--

La última edición de la clasificación de tumores de la OMS reconoce la existencia de al menos 17 tipos histológicos de carcinomas de tipo especial (2), y entre estos el carcinoma lobulillar invasivo representa el tipo más frecuentemente encontrado (72).

El grado histológico es considerado como uno de los factores pronósticos mejor establecidos en el diagnóstico del cáncer de mama (73). Según el sistema de clasificación de Nottingham (método de Bloom –Richardson modificado) (74,75), esta neoplasia se clasifica en tres grados histológicos dependiendo de la diferenciación de las células tumorales: bien diferenciado (grado 1), moderadamente diferenciado (grado 2) y mal diferenciado (grado 3). El sistema de clasificación evalúa tres dimensiones: formación de túbulos, pleomorfismo nuclear y conteo mitótico. Cada componente se clasifica con una puntuación de 1 a 3. El grado general se determina por la suma de las puntuaciones de los tres componentes (**Tabla 3 y 4**). Cabe señalar que por lo general, los tumores con un grado más alto están asociados con una menor tasa de supervivencia (76).

**Tabla 3. Método semicuantitativo para determinar el grado histológico en los tumores de mama (Nottingham).**

<b>CARACTERÍSTICAS</b>	<b>PUNTUACIÓN</b>
<b>Formación de túbulos y glándulas</b>	
Mayoría del tumor (75%)	<b>1</b>
Moderada cantidad (10-75%)	<b>2</b>
Escasa cantidad o ninguna	<b>3</b>
<b>Pleomorfismo nuclear</b>	
Núcleos pequeños, regulares y uniformes	<b>1</b>
Moderado incremento en el tamaño	<b>2</b>
Marcada variabilidad	<b>3</b>
<b>Número de mitosis</b>	
Depende del microscopio y del campo	<b>1-3 (ver Tabla 4)</b>
El grado final se obtiene de la suma de los puntos obtenidos:	
Grado 1 (bien diferenciado)	<b>3-5 puntos</b>
Grado 2 (moderadamente diferenciado)	<b>6-7 puntos</b>
Grado 3 (poco diferenciado)	<b>8-9 puntos</b>

**Tabla 4. Puntuación según la cuenta mitótica.**

Scoring Categories of Mitotic Counts				
Field diameter (mm)	Area (mm <sup>2</sup> )	Number of mitoses per 10 fields corresponding to:		
		Score 1	Score 2	Score 3
0.40	0.125	≤4	5 to 9	≥10
0.41	0.132	≤4	5 to 9	≥10
0.42	0.139	≤5	6 to 10	≥11
0.43	0.145	≤5	6 to 10	≥11
0.44	0.152	≤5	6 to 11	≥12
0.45	0.159	≤5	6 to 11	≥12
0.46	0.166	≤6	7 to 12	≥13
0.47	0.173	≤6	7 to 12	≥13
0.48	0.181	≤6	7 to 13	≥14
0.49	0.189	≤6	7 to 13	≥14
0.50	0.196	≤7	8 to 14	≥15
0.51	0.204	≤7	8 to 14	≥15
0.52	0.212	≤7	8 to 15	≥16
0.53	0.221	≤8	9 to 16	≥17
Field diameter (mm)	Area (mm <sup>2</sup> )	Score 1	Score 2	Score 3
0.54	0.229	≤8	9 to 16	≥17
0.55	0.238	≤8	9 to 17	≥18
0.56	0.246	≤8	9 to 17	≥18
0.57	0.255	≤9	10 to 18	≥19
0.58	0.264	≤9	10 to 19	≥20
0.59	0.273	≤9	10 to 19	≥20
0.60	0.283	≤10	11 to 20	≥21
0.61	0.292	≤10	11 to 21	≥22
0.62	0.302	≤11	12 to 22	≥23
0.63	0.312	≤11	12 to 22	≥23
0.64	0.322	≤11	12 to 23	≥24
0.65	0.332	≤12	13 to 24	≥25
0.66	0.342	≤12	13 to 24	≥25
0.67	0.353	≤12	13 to 25	≥26
0.68	0.363	≤13	14 to 26	≥27
0.69	0.374	≤13	14 to 27	≥ 28

Tomado de los protocolos del Colegio Americano de Patólogos (CAP Cancer Protocol Templates).

Por otra parte, es importante conocer la clasificación y estadificación del cáncer de mama por el sistema TNM, el cual es una estrategia para agrupar a las pacientes con respecto a su pronóstico, facilitando la toma de decisiones terapéuticas (**Tabla 5**).

**Tabla 5. Clasificación y estadificación patológica del cáncer de mama según el American Joint Committee (AJCC, 8ª edición) (77).**

<b>Tx</b>	Tumor primario no puede ser evaluado
<b>T0</b>	Sin evidencia de tumor primario
<b>Tis</b>	Carcinoma ductal in situ Enfermedad de Paget del pezón
<b>T1</b>	Tumor de 2 cm o menos en su diámetro mayor T1mi: tumor < o igual a 1 mm en su diámetro mayor T1a: tumor > de 1 mm pero < o igual a 5 mm T1b: tumor > de 5 mm hasta 10 mm T1c: tumor > de 10 mm hasta 20 mm
<b>T2</b>	Tumor > de 20 mm hasta 50 mm
<b>T3</b>	Tumor > de 50 mm
<b>T4</b>	Tumor de cualquier tamaño con extensión a pared torácica o a piel T4a: Extensión a pared torácica T4b: Piel con edema, ulceración o nódulos satélites T4c: T4a y T4b están presentes T4d: Carcinoma inflamatorio
<b>pNx</b>	No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales
<b>pN0</b>	Sin evidencia de metástasis en ganglios linfáticos regionales o solo CTA pN0 (i+): Presencia de células tumorales ≤ 0,2 mm pN0 (mol+): Hallazgos moleculares positivos por PCR (reverse transcriptase polymerase)
<b>pN1</b>	Micrometástasis pN1mi: 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 mamarios internos ipsilaterales, excluye CTA pN1c: Combinación de pN1a y pN1b
<b>pN2</b>	Metástasis en 4-9 ganglios axilares o afectación de ganglios linfáticos de mama interna clínicamente sin afectación axilar pN2a: Metástasis en 4-9 ganglios axilares (al menos uno > 2 mm) pN2b: Metástasis en ganglios linfáticos de mama interna detectados clínicamente sin afectación de ganglios axilares
<b>pN3</b>	pN3a: Metástasis en ≥ a 10 ganglios axilares o en ganglios infraclaviculares pN3b: pN1a o pN2a en presencia de cN2b o pN2a en presencia de pN1b pN3c: Metástasis ganglionar supraclavicular ipsilateral
<b>M0</b>	No existen pruebas clínica o radiológicas de metástasis a distancia
<b>cM0(i+)</b>	No existen pruebas clínica o radiológicas de metástasis a distancia, aunque sí hay evidencia de células tumorales circulantes en sangre, médula ósea o tejidos ganglionares no regionales en pacientes sin signos o síntomas de metástasis
<b>M1</b>	Metástasis a distancia detectadas clínicamente o por métodos radiológicos y/o metástasis histológicamente probada mayor de 0.2 mm (pM)

T : tumor N: ganglios linfáticos regionales M: metástasis IHQ: inmunohistoquímica

### 2.3.5 UTILIDAD INMUNOHISTOQUÍMICA EN EL CÁNCER DE MAMA

La inmunohistoquímica (IHQ) es un procedimiento histopatológico que se basa en la utilización de anticuerpos, los cuales se unen específicamente a la sustancia que se quiere identificar (antígeno primario). Tiene un papel fundamental en la determinación de factores predictivos y pronósticos en el cáncer de mama. Un factor predictivo aporta información de la probabilidad de respuesta tumoral a un agente terapéutico, mientras que un factor pronóstico proporciona una información prospectiva de la evolución del paciente, permitiendo predecir el comportamiento del tumor y guiando así las decisiones terapéuticas.

Estos factores se determinan mediante el uso de biomarcadores biológicos, como son los receptores de estrógenos (RE), receptores de progesterona (RP), índice de proliferación celular (medido mediante el ki67) y la oncoproteína Her-2/neu (HER-2) (78).

#### **A. Receptores hormonales (estrógeno/progesterona):**

Los RE y los RP son proteínas localizadas en el núcleo de las células, que al unirse a las hormonas esteroideas son activados y estimulan el crecimiento celular, tanto en condiciones normales como neoplásicas. La expresión del RP es regulada por el RE, por lo tanto la presencia del RP indica que la vía de activación del RE está intacta (79).

Existen dos formas principales de RE, RE $\alpha$  y RE $\beta$ , que están codificadas por genes separados, ESR1 y ESR2, respectivamente. EL RP también tiene dos formas, la A y la B, pero está codificado por un solo gen, el gen PGR, y su relación con el cáncer de mama es menos clara. Ambos tipos de receptores se expresan en una amplia variedad de tejidos, siendo el RE $\alpha$  el receptor más estrechamente asociado con el cáncer de mama (80).



Los estrógenos juegan un papel central en el desarrollo del carcinoma mamario y por consiguiente en el tratamiento del mismo. Aproximadamente, el 70% de los cánceres de mama expresan RE (es decir son RE positivos); estos tumores tienden a crecer más lentamente y están mejor diferenciados que los tumores RE negativos (81).

Desde el reconocimiento de que la ablación de estrógeno tiene impacto en los grupos de pacientes con cáncer de mama que expresan RE, se correlaciona el estatus RE $\alpha$  como un predictor del pronóstico, debido a la capacidad de respuesta clínica de este tipo de tumores a la terapia anti-estrógeno (82).

## **B. HER-2:**

El gen ERBB2 (human epidermal growth factor receptor 2) (HER-2) localizado en el cromosoma 17, codifica a una glicoproteína que es un receptor para el factor de crecimiento de tipo epidérmico humano (83). La amplificación de HER-2 produce una sobreexpresión de la oncoproteína, lo cual se ha observado en aproximadamente 25% de las pacientes con cáncer de mama. Esto está asociado a un incremento en la actividad biológica del tumor, es decir, una tasa de división acelerada con mayor respuesta de la célula a los niveles normales de factores de crecimiento (83,84). Generalmente, es indicativo de una evolución desfavorable del cáncer de mama y peor pronóstico. La relación entre el estado de HER-2 y el pronóstico es compleja, sin embargo diferentes estudios han demostrado que las pacientes con este tipo de carcinomas, responden favorablemente a las terapias específicas anti-HER-2 (85). Esta oncoproteína, también puede ser evaluada mediante hibridación in situ, en aquellos casos donde la expresión resulte dudosa por IHQ (86).

### **C. Ki67:**

El gen MKi67 está ubicado en el brazo largo del cromosoma 10 (87) y codifica una proteína nuclear que está asociada a la proliferación celular, llamada Ki67. Esta proteína es expresada exclusivamente en las células proliferantes y ha demostrado tener un papel importante en la regulación del ciclo celular. La actividad proliferativa de las células tumorales es estimada mediante el uso del anticuerpo monoclonal Ki67 (88), el cual se utiliza comúnmente como marcador fenotípico para determinar los subtipos moleculares del cáncer de mama, en particular los subtipos luminales (89). De esta manera, el uso de ki67 puede facilitar la toma de decisiones clínicas, ya que existen evidencias de su utilidad para medir la respuesta a un determinado tratamiento adyuvante. Además, se ha observado que altos niveles de Ki67 predicen una mejor respuesta al tratamiento con quimioterapia (90).

Sin embargo, el valor pronóstico de Ki67 es una cuestión de controversia, debido a la falta de robustas metodologías de medición, por el tema ampliamente reconocido de su expresión heterogénea intratumoral y a que existe una significativa variabilidad interobservador en el momento de realizar su medición (91). Todo ello ha hecho difícil determinar, de manera clara y consistente, el valor de Ki67 como un marcador pronóstico independiente. A pesar de esto, no se puede ignorar que tiene valor como parte de un índice pronóstico si se utiliza junto con otros biomarcadores, lo que mejoraría su utilidad pronóstica.

### ***2.4 CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL CÁNCER DE MAMA***

Es bien conocido que el cáncer de mama es una enfermedad heterogénea, la cual comprende múltiples entidades que muestran factores de riesgo, presentación clínica,

características patológicas, comportamiento biológico y una respuesta a la terapia diferentes (92). Debido a que tumores semejantes muestran comportamientos distintos, se pensó que la explicación a estas diferencias se encontraba a nivel molecular. Por ello, en la última década se han realizado diversos estudios de perfiles de expresión génica en los carcinomas de mama mediante el análisis de microarreglos de ADN (93).

El primero de estos estudios identificó una lista de 534 genes, a los cuales denominó genes intrínsecos. Estos genes definen al menos a cuatro subtipos moleculares del cáncer de mama (94,95), los cuales han sido denominados Luminal A, Luminal B, HER2-enriquecido y basal-like, Estos son los subtipos mejor caracterizados hasta la fecha y de los que más datos se tienen acerca de su comportamiento y pronóstico (**Figura 2**).

#### ***A .Carcinomas con RE positivos***

##### **1. Luminal A:**

Este subtipo se caracteriza por la regulación positiva del gen del RE (ESR-1), sin amplificación del gen HER-2. Por inmunohistoquímica (IHQ), estos tumores se caracterizan como RE positivo y HER-2 negativo, y presentan expresión de citoqueratinas (CK) luminales, tales como CK 8/18. Son neoplasias generalmente bien diferenciadas, con una expresión alta de RP y bajo índice de proliferación celular (96).

##### **2. Luminal B:**

La expresión del gen ESR-1 y de genes de proliferación caracterizan al subtipo Luminal B (96). En comparación con los tumores Luminal A, estos tienden a tener una expresión más baja del conjunto de genes relacionados con los RE. Además, tienen tasas de proliferación más altas, evidenciadas por el marcaje de Ki67 mediante IHQ, y también

sobre-expresan el gen HER-2, al menos en algunos casos. Por lo tanto, los tumores Luminal B parecen ser un grupo más heterogéneo. Morfológicamente tienden a ser de un grado más alto y tienen un peor pronóstico, con mayor probabilidad de recaída en comparación con los tumores Luminal A (97).

### ***B. Carcinomas con RE negativos***

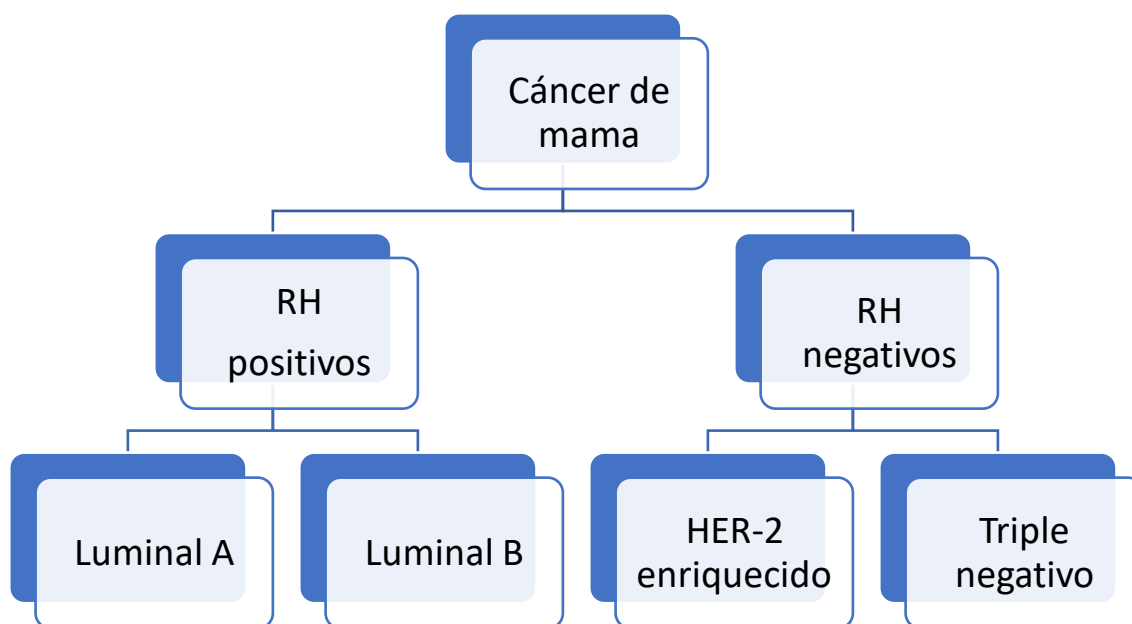
#### **3. HER-2 enriquecido:**

Por análisis genómico estos tumores muestran una mayor expresión del gen HER-2 y de genes relacionados con la proliferación celular. Por IHQ exhiben negatividad para los receptores hormonales y positividad de la proteína HER-2. Clínicamente se comportan de una manera agresiva a pesar de mostrar una buena respuesta a la quimioterapia (98).

#### **4. Basal-like (Triple Negativo):**

El fenotipo basal se caracteriza por la falta de expresión de genes de RE y de HER-2. Como su nombre indica, este tipo de tumores son positivos por IHQ para CK relacionadas con las células basales / mioepiteliales y son negativos para RE, RP y HER-2, de allí que también sean conocidos como tumores triple negativos (TN). Son neoplasias de alto grado con alta tasa mitótica, que clínicamente se presentan a una edad más temprana y tienen un mal pronóstico (99).

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



#### 2.4.1 CLASIFICACIÓN DEL CÁNCER DE MAMA EN SUBTIPOS INTRÍNSECOS USANDO INMUNOHISTOQUÍMICA

Actualmente en la práctica clínica la toma de decisiones se basa en la definición de los carcinomas en subtipos moleculares Luminal A, Luminal B, HER-2 enriquecido y TN. Determinar el perfil de expresión génica de estas neoplasias es un procedimiento costoso, por lo cual no se realiza de forma rutinaria. Debido a que la IHQ es un método sensible, específico, fácil y económico, se han desarrollado perfiles subrogados por IHQ de los subtipos moleculares para su utilización en la rutina clínica. Los subtipos definidos por los criterios clínico-patológicos son similares pero no idénticos a los subtipos intrínsecos y representan una aproximación (100). Este enfoque ha sido denominado IHQ-4, ya que utiliza la determinación IHQ de RE, RP, la detección de sobreexpresión y/o amplificación de HER-2 y el índice de marcaje de Ki67 (tomando como punto de corte el valor de 14%),

como medios para identificar a los subtipos tumorales (101,102) (**Tabla 6 y 7**). La determinación de estos marcadores se lleva a cabo como parte de la rutina diaria sobre preparaciones histológicas previamente fijadas en formol y posteriormente embebidas en parafina. El puntaje IHQ-4 es atractivo porque se ha demostrado que es tan informativo como el perfil molecular y menos costoso, aunque la concordancia no es completa (103).

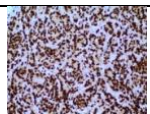
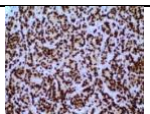
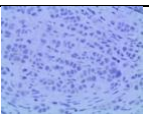
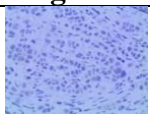
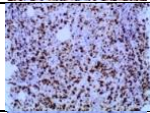
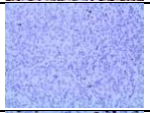
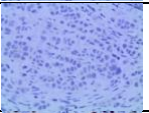
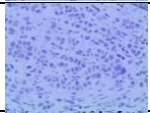
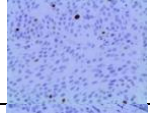
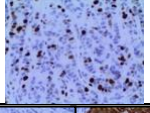
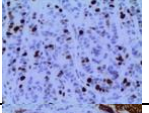
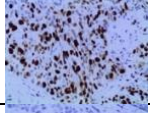
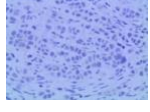
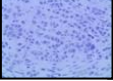
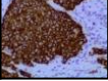
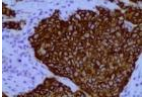
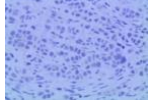
Los protocolos, valores de corte y la manera de informar los resultados, está basada en las guías creadas por el colegio Americano de Patólogos y la Sociedad Americana de Oncología Clínica (104).

**Tabla 6. Clasificación del cáncer de mama en subtipos intrínsecos usando IHQ.**

<u><b>RE POSITIVO</b></u>	<u><b>RE NEGATIVO</b></u>
<p><b>Luminal A</b></p> <p>·RH positivo/HER-2 negativo/ki67 &lt;14%</p>	<p><b>HER-2</b></p> <p>·RH negativo/HER-2 positivo</p>
<p><b>Luminal B</b></p> <p>·RH positivo/HER-2 negativo/ki67 ≥14%</p> <p>·RH positivo/HER-2 positivo/ki67 ≥14%</p>	<p><b>Triple negativo</b></p> <p>·RH negativo/HER-2 negativo</p>

RH: receptores hormonales. IHQ: inmunohistoquímica.

**Tabla 7. Clasificación del cáncer de mama en subtipos intrínsecos usando IHQ.**

	<b>Luminal A</b>	<b>Luminal B</b>	<b>HER-2</b>	<b>Triple negativo</b>
<b>RE</b>				
<b>RP</b>				
<b>Ki67</b>				
<b>HER-2</b>		 		

## 2.5 MANEJO DEL CÁNCER DE MAMA

El manejo del cáncer de mama es multidisciplinario, depende del estadio de la enfermedad y debe involucrar a especialistas en radiología de la mama, anatomía patología, cirugía oncológica, oncología médica, oncología radioterápica, cirugía reconstructiva, entre otras.

### 2.5.1 MANEJO QUIRÚRGICO

El tratamiento quirúrgico estándar del cáncer de mama ha ido cambiando a lo largo de los años desde que Halsted consideró que la mastectomía radical con la disección de los ganglios linfáticos axilares era la forma más adecuada de tratar a esta enfermedad (105). Esta operación, que consiste en la extirpación de una gran parte de la piel, todo el parénquima mamario y los músculos pectorales mayor y menor en bloque con los

ganglios linfáticos axilares, se limita ahora a algunos tumores localmente avanzados. Posteriormente se demostró que procedimientos menos agresivos como la tumorectomía, segmentectomía y la cuadrantectomía, los cuales son términos diferentes que indican la escisión del tumor con parénquima circundante normal, son igualmente eficaces en el control local de la mayoría de los tumores (106), con una supervivencia similar a la conseguida con la mastectomía y con tasas de recidiva local inferiores al 5% a los 5 años (107).

Durante las últimas décadas, la cirugía conservadora (CC) ha sido la opción quirúrgica de elección para el cáncer de mama. La elección de una u otra técnica depende principalmente del tamaño, localización y extensión del tumor; y del volumen de la mama. En los casos en que el volumen mamario y el tamaño tumoral permiten una resección oncológica factible, el enfoque conservador es mejor que los tratamientos mutilantes y radicales, es menos invasivo, más rápido y presenta buenos resultados estéticos (108).

Por lo anteriormente dicho, el concepto de grandes escisiones ha sido reemplazado progresivamente por el concepto de márgenes libres. Un margen se define como la distancia de seguridad que hay entre el cáncer y los bordes de resección. Una escisión que logra márgenes negativos para el cáncer invasivo por lo general se considera suficiente. Numerosos informes demuestran que el estado de los márgenes parece influir en el riesgo de recurrencia, pero sigue siendo controvertido una definición de la distancia adecuada para considerar un margen libre (109). Algunos autores han correlacionado la distancia microscópica del margen con el riesgo de recidivas locales, mostrando que la distancia es proporcional al riesgo de recidiva local (110,111).



## 2.5.2 TRATAMIENTO SISTÉMICO (TS)

El uso de quimioterapia como parte del tratamiento en el cáncer de mama ha demostrado un claro beneficio en términos de supervivencia global (SG), tanto si es administrada antes como después de la cirugía, es decir en régimen de neoadyuvancia o de adyuvancia, respectivamente (112,113). Los objetivos de este tratamiento son:

- Incrementar la tasa de cirugías conservadoras mejorando las opciones quirúrgicas (convertir tumores inoperables en operables, obteniendo mejores resultados estéticos).
- Tratamiento precoz de la enfermedad micrometastásica.
- Evaluar in vivo la sensibilidad del tumor a la terapia específica.
- El estudio de biomarcadores.
- La aprobación de nuevos fármacos.
- Aumentar la supervivencia libre de enfermedad (SLE).

La quimioterapia neoadyuvante (QNA) es una situación clínica ideal para investigar predictores moleculares de respuesta y resistencia a distintos agentes terapéuticos, con el objetivo de predecir qué pacientes conseguirán una respuesta completa al tratamiento y quienes no (114). Para ello, es necesario conocer como responde el tumor a la terapia a nivel anatomopatológico, lo que se conoce como respuesta patológica (115).

Es ampliamente aceptado que una respuesta patológica completa (RPC) guarda una estrecha relación con las tasa de SG. La RPC se define como la ausencia de tumor residual, tanto en la mama como en la axila posterior a la neoadyuvancia. Para medir esta respuesta se han creado diversos sistemas de valoración que utilizan distintos parámetros

morfológicos como el tamaño tumoral, el porcentaje de celularidad tumoral residual, el estado ganglionar, entre otros (116).

El sistema de valoración que utilizamos en nuestro centro es el de Miller y Payne (117), basado en determinar el cambio de la densidad celular en el tumor en relación con la densidad observada en la biopsia con aguja previa al tratamiento. Este consta de cinco categorías para evaluar la respuesta en el tumor, de las cuales el grado 1 corresponde a la ausencia de respuesta y el grado 5 a una RPc en la mama (**Tabla 8**). El estado ganglionar se valora en 4 grupos, teniendo en cuenta si existe enfermedad metastásica con cambios secundarios a QNA o signos de respuesta sin neoplasia residual (**Tabla 9**).

**Tabla 8. Sistema de valoración de la respuesta patológica del tumor posterior a la neoadyuvancia de Miller y Payne.**

Grado 1	Cambios celulares mínimos sin reducción de la densidad celular
Grado 2	Disminución discreta de la celularidad tumoral infiltrante inferior al 30% de la masa tumoral
Grado 3	Disminución significativa de la celularidad tumoral infiltrante entre el 30–90% de la masa tumoral
Grado 4	Disminución marcada de la celularidad tumoral infiltrante mayor del 90% de la masa tumoral con persistencia exclusiva de focos microscópicos
Grado 5	Ausencia de celularidad tumoral infiltrante en la mama

**Tabla 9. Sistema de valoración de la respuesta patológica ganglionar posterior a la neoadyuvancia de Miller y Payne.**

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	Ganglios linfáticos con cambios secundarios a respuesta sin infiltración neoplásica residual

Actualmente la QNA estándar se basa en la combinación de antraciclinas y taxanos para los tumores luminales y triples negativos, más la adición de trastuzumab y/o pertuzumab, anticuerpos monoclonales humanizados contra HER-2, para pacientes con tumores HER-2 positivos (118) (**Tabla 10**).

**Tabla 10. Algoritmo del tratamiento neoadyuvante para pacientes con cáncer de mama (119).**

SUBTIPO TUMORAL	ESTÁNDAR	A VALORAR	OTRAS OPCIONES
Her2 positivo	Antraciclinas → taxanos + trastuzumab	Adición de pertuzumab	Taxanos + trastuzumab ± carboplatino
Triple negativo	Antraciclinas → taxanos	Adición de carboplatino	Adición de bevacizumab
Luminal B	Antraciclinas → taxanos		Taxanos → antraciclinas
Luminal A	<b>Posmenopáusica :</b>		
	Hormonoterapia con inhibidores de la aromatasas.		Uso de quimioterapia
	<b>Premenopáusica:</b>		
	Quimioterapia basada en antraciclinas → taxanos		Uso de hormonoterapia

Existen diferencias entre los subtipos moleculares y la RPc del tumor tras la QNA. Aproximadamente el 64% de los carcinomas TN tienen una RPc, el 65% de los HER2+ y luminal B/HER2+, y el 25% en Luminal A o Luminal B/HER2-. Por tanto, los subtipos moleculares podrían permitir seleccionar a las pacientes con mayor probabilidad de tener un estatus ganglionar negativo posterior a la neoadyuvancia, las cuales pudieran ser candidatas a una cirugía axilar mas conservadora (120,121).

### 2.5.3 TERAPIA HORMONAL

El tratamiento hormonal también es una opción en el contexto preoperatorio, sobre todo para mujeres posmenopáusicas con tumores hormonosensibles (122). La conversión de andrógenos en estrógenos por vía de la enzima aromatasas en los tejidos periféricos (por ejemplo, en los tejidos adiposos como el tejido mamario), es la fuente primaria de

estrógenos en mujeres posmenopáusicas. Los niveles de estrógeno y aromatasa están elevados en el tejido mamario maligno, y los inhibidores de la aromatasa pueden bloquear la acción de la enzima y reducir la producción de estrógenos (123). La manipulación hormonal quirúrgica (por ejemplo, ooforectomía) en pacientes con enfermedad metastásica se consideró el primer ejemplo de terapia antitumoral dirigida (124), y ha sido en gran medida suplantado por enfoques farmacológicos con moduladores de RE selectivos tales como el tamoxifeno y los inhibidores de aromatasa (125).

Inicialmente, el tratamiento hormonal se basó en la administración de tamoxifeno, estudios posteriores evidenciaron que los inhibidores de aromatasa tienen superioridad sobre el primero, lo cual ha extendido su uso tanto en el contexto adyuvante como neoadyuvante (126). Los estudios actuales definirán mejor el esquema óptimo de quimioterapia, hormonoterapia y así como nuevos fármacos y los pacientes que más se beneficiarán de este tratamiento.

#### 2.5.4 PAPEL DE LA RADIOTERAPIA EN EL CÁNCER DE MAMA

Numerosos ensayos han estudiado los efectos de la radioterapia en el control local de esta enfermedad y en la mortalidad en el cáncer de mama inicial, demostrando claros beneficios en las pacientes ya que disminuye las recaídas locales y aumenta la SG (127). En los últimos años, el diagnóstico cada vez más precoz del cáncer de mama y el conocimiento cada vez más profundo de su biología y comportamiento, están modificando el concepto del tratamiento con radiaciones ionizantes.

La radioterapia puede ser utilizada de forma preoperatoria (neoadyuvante) o postoperatoria (adyuvante). En el cáncer de mama, debido al incremento de la cirugía conservadora, el 90% de las pacientes reciben radioterapia postoperatoria. Diversos

estudios han demostraron que la eficacia de la cirugía conservadora de la mama seguida de radioterapia era superponible a la de la mastectomía en términos de control local y supervivencia, adoptándose este tratamiento como estándar en los estadios iniciales de la enfermedad (128).

La radioterapia está indicada en todos los casos en que se ha realizado una cirugía conservadora, mientras que la radioterapia posmastectomía y de las áreas ganglionares está indicada cuando hay un alto riesgo de recidiva local: tumores T3 o T4, ganglios positivos, vaciado ganglionar insuficiente (menos de 6-10 ganglios extraídos) o afectación extracapsular ganglionar  $>2$  mm., entre otras.

## ***2.6 MANEJO DE LA AXILA EN EL CÁNCER DE MAMA***

Históricamente la cirugía y dentro de ella la linfadenectomía axilar han supuesto uno de los mayores pilares en el tratamiento del cáncer de mama. Este se consideraba como una enfermedad locoregional, por lo tanto la resección radical fue el tratamiento quirúrgico estándar durante mucho tiempo. Se demostró que la presencia de las metástasis en el sistema de drenaje de los ganglios linfáticos axilares podría disminuir hasta en un 40% la tasa de supervivencia a los 5 años (129), por esta razón, aunque tiene una dudosa influencia en el aumento de la supervivencia, entre los objetivos principales de la disección axilar (DA) se encuentran la estadificación y control de la enfermedad, además de ser un factor a tener en cuenta para la indicación de tratamientos complementarios (130).

Como con la cirugía, el manejo de la axila en pacientes con carcinoma de mama ha evolucionado rápidamente en los últimos años y se ha desarrollado un enfoque cada vez más conservador de la estadificación axilar.

Actualmente se considera al estado de los ganglios axilares el factor pronóstico más relevante en las mujeres con cáncer de mama en estadios tempranos. Sin embargo, la disección de los ganglios linfáticos axilares se asocia con una morbilidad significativa, incluyendo complicaciones a largo plazo como limitación de los movimientos del hombro, parestesias y linfedema, que pueden tener un impacto negativo en la calidad de vida del paciente (131,132).

Buscando minimizar las complicaciones de la cirugía axilar y conociendo que un ganglio centinela es el primer ganglio linfático que drena el lecho tumoral, y como tal representa el primer sitio de afectación cuando las células tumorales migran desde el tumor; se implementó la biopsia selectiva del ganglio linfático centinela (BSGC) como un procedimiento alternativo a la linfadenectomía para el estudio y estadificación de la axila, (133–135), con menores complicaciones que las producidas por la DA (136).

### 2.6.1 HISTORIA DEL GANGLIO CENTINELA

El concepto de ganglio centinela (GC) no es nuevo. Ya en 1963, Oliver Cope se refería al ganglio Delphiano, como el ganglio linfático que pronosticaría el proceso natural de la enfermedad en cuanto a la afectación de un órgano próximo. En 1977, el urólogo R. Cabanas describe la técnica para estudiar la diseminación inguinal del cáncer de pene como un medio para identificar el primer ganglio que recibe el drenaje de estos carcinomas (137). La hipótesis propuesta por Cabanas confirmó que la migración de las células tumorales se realiza a través de un canal linfático a un primer ganglio antes de afectar a otros de la misma área de drenaje. De esta manera, el estudio del GC puede predecir el estado de los otros ganglios, lo cual permitiría la estadificación y tratamiento de la enfermedad (138).

En el año 1992, el concepto de GC fue evaluado en el melanoma por Morton, partiendo de la base de que el camino inicial de las metástasis, en la mayoría de pacientes con melanoma, es la vía linfática. Observaron cómo la linfadenectomía rutinaria en pacientes en estadio clínico I de la enfermedad muchas veces daba resultados negativos; por tanto, se planteó la controversia de hacer o no sistemáticamente este tipo de linfadenectomías ya que no aportaban beneficios y podían ocasionar problemas postoperatorios, como el edema de miembros o braquiedema (139).

El primer estudio que investigó la detección del GC en el cáncer de mama fue el de Krag y col. Este grupo presentó un trabajo donde demostraron una precisión del 100% en la detección del GC mediante el uso de un radioisótopo, el tecnecio 99 (140). Posteriormente realizaron la validación de la técnica, llegando a la conclusión de que la biopsia del GC puede predecir la presencia o ausencia de metástasis en los ganglios axilares en las pacientes con cáncer de mama (141).

Basados en estos hechos, Giuliano en 1994 aplicando la técnica de Morton al cáncer de mama con ganglios axilares clínicamente negativos, fue el primero en estudiar la viabilidad de la técnica de forma intraoperatoria utilizando un colorante vital, el azul de isosulfán (142). Posteriormente Umberto Veronesi confirmó la utilidad del método mediante la realización de ensayos clínicos con el objetivo de evitar vaciamientos axilares de forma rutinaria y a veces innecesarios. Como hemos visto, surge una potencial alternativa que es la BSGC, en los casos de ganglios axilares clínicamente negativos, obteniendo una precisión en los T1 del 98% y en los T2 y T3 del 82%, observando cómo la combinación del azul patente y radioisótopos es complementaria y aumenta el éxito de la técnica (143,144).



Con los conocimientos adquiridos se logra implementar a la BSGC como método de elección para la estadificación clínica de cáncer de mama en estadio inicial, quedando demostrado que el GC era la modalidad alternativa a la DA. Esta técnica puede ser tan precisa como la linfadenectomía, y ciertamente es menos invasiva.

La cirugía axilar adicional fue dictada por los resultados de la BSGC; ya había quedado demostrado que los GC tienen más probabilidades de contener metástasis, si estuvieran presentes, que los ganglios no centinelas, por lo tanto el estudio del mismo permitía predecir el estado del resto de la axila y evitar la DA en aquellas pacientes con GC negativo, ya que se puede asumir que el resto de la axila está libre de enfermedad, mientras que se recomendó a las pacientes con GC positivo completar el vaciamiento de la axila.

Posteriormente, diferentes estudios evidenciaron que menos de la mitad de las pacientes que fueron sometidas a una DA a causa de tener el GC positivo presentaban algún ganglio más afecto en el resto de la axila (145). Distintas publicaciones comienzan a sugerir evitar las linfadenectomías en cierto grupo de pacientes, ya que se observó que hasta en el 70% de las pacientes con GC positivo, este era el único ganglio axilar afecto (146).

## 2.6.2 INDICACIÓN DE LA BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA

Según el último consenso sobre la BSGC en el cáncer de mama realizado por la Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria, estos son los criterios de indicación y contraindicación de la BSGC (147):

### **a. Criterios de indicación:**

- Carcinomas infiltrantes T1, T2 y T3.

- En los casos de carcinoma intraductal con alto riesgo para infiltración (mayores de 3 cm, alto grado histológico, masa palpable).
- En el carcinoma de mama en el varón se siguen las mismas indicaciones que en a mujer.

**b. Criterios de exclusión o contraindicación:**

- Carcinoma inflamatorio.
- Radioterapia axilar previa a dosis de 50Gy.
- Carcinoma localmente avanzado con afectación ganglionar, en ausencia de TS.

**c. Consideraciones especiales:**

- En pacientes con axila clínica y ecográficamente negativa de inicio (cN0), puede realizarse la BSGC tanto previa al TS como posterior al mismo.
- En pacientes cN1/cN2 de inicio con negativización clínica y ecográfica de la axila tras la neoadyuvancia (cyN0), puede realizarse la BSGC después del TS y evitar la DA cuando el GC sea negativo.

### 2.6.3 ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO DEL GANGLIO CENTINELA

El objetivo de la valoración anatomopatológica del GC es conocer el volumen tumoral que afecta al ganglio linfático. Estudios han demostrado que esto tiene un importante valor pronóstico, ya que las pacientes con mayor volumen tumoral tienen peor supervivencia que aquellas con metástasis de menor tamaño (148,149). En consecuencia, se crearon definiciones para clasificar a las metástasis que afectan al GC en tres grupos (150):

- *Macrometástasis*: depósitos de células tumorales mayores de 2,0 mm.
- *Micrometástasis*: depósitos de células tumorales mayores de 0,2 mm pero no mayores de 2,0 mm.

- *Células tumorales aisladas (CTA)*: grupos de células tumorales o células tumorales individuales no mayores de 0,2 mm.

Tradicionalmente la valoración histológica del GC consta de dos fases, una fase intraoperatoria en la cual se informa un diagnóstico provisional y otra en diferido, la cual se realiza posterior a la fijación en formol y de la inclusión del tejido en parafina. Existen distintos protocolos para evaluar al GC según los centros con una gran disparidad de métodos y escasa reproducibilidad diagnóstica. Entre estos métodos se encuentra el uso de cortes por congelación del GC y/o la realización de improntas citológicas.

En este sentido, el corte por congelación para el análisis intraoperatorio del GC tiene una sensibilidad de 74% para la detección de micrometástasis y una sensibilidad del 100% para las macrometástasis, con una tasa de falsos negativos (TFN) del 21% (151). Por otro lado, la citología por impronta intraoperatoria tiene una sensibilidad del 38% al 79%, con una TFN entre 18% y 26% según diferentes series (152,153).

Por estas razones, y al no existir un protocolo estandarizado para la evaluación del GC, resultaba complicado lograr disminuir las tasas de segundas intervenciones quirúrgicas indicadas para completar la linfadenectomía axilar en aquellos casos en los cuales se informaba un resultado falso negativo en el estudio intraoperatorio (154). La considerable variabilidad en los protocolos existentes pone de relieve la urgente necesidad de formular un método que unifique criterios y logre disminuir las tasas de reintervenciones quirúrgicas. Es aquí donde la biología molecular aparece como una solución a los problemas en la estandarización del análisis del GC (155).

#### 2.6.4. ANÁLISIS DEL GANGLIO CENTINELA POR MÉTODO MOLECULAR

Se han creado distintos métodos de uso intraoperatorio para el análisis molecular cuantitativo del GC, pero ha sido el método creado por la casa japonesa Sysmex®, el método OSNA por sus siglas en inglés (One Step Nucleic acid Amplification), el aceptado como técnica molecular recomendada por la Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria en el consenso 2013 de ganglio centinela (147).

El método OSNA realiza un procedimiento cualitativo y cuantitativo altamente específico, basado en el análisis por amplificación de ácidos nucleicos para detectar a nivel del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) el grado de expresión del gen que codifica a la CK19, con puntos de corte bien definidos para la equivalencia con los tamaños de las metástasis de la clasificación TNM. Estos se determinaron por análisis estadístico de la distribución logarítmica normal del número de copias obtenido de los ganglios evaluados en la validación de la técnica OSNA (156).

Este sistema permite analizar la totalidad del ganglio linfático, aportando resultados más precisos y disponibles con rapidez. Utiliza una innovadora técnica de amplificación denominada RT-LAMP (Loop Mediated Isothermal Amplification), cuyas principales características son:

- Transcripción inversa de ARNm y amplificación de ADN sin ningún paso de purificación.
- Amplificación isotérmica (65°C).
- Tiempo de amplificación en sólo 16 minutos.
- Seis primers diferentes que proporcionan una alta especificidad.
- Detección en tiempo real.

La CK19 es un marcador celular epitelial que no está presente en los ganglios linfáticos normales, por lo tanto la determinación del número de copias de ARNm de CK19 en los ganglios axilares nos permite saber si el GC está afectado. La elección de la CK19 como marcador se realizó después de comparar su sensibilidad y especificidad con la de otros 45 marcadores, siendo la CK19 la que mostró mayor capacidad para discriminar entre ganglios negativos y metastásicos. Esto ha permitido la introducción de un nuevo valor denominado “carga tumoral total” (CTT), que considera la suma de las copias de ARNm de CK19 de todos los ganglios positivos (157), la cual puede servir de ayuda como una herramienta adicional a la toma de decisiones.

#### 2.6.5 BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA POSTERIOR A LA NEOADYUVANCIA

Durante mucho tiempo se ha realizado la linfadenectomía radical como parte del manejo axilar en las pacientes sometidas a QNA, independientemente del estado clínico de la axila. Dado que uno de los objetivos de esta terapia es poder realizar cirugías más conservadoras posterior a su uso, parece lógico que esto también afecte a los ganglios axilares.

En las últimas décadas se han publicado numerosos trabajos relacionados con la utilidad de la BSGC en las pacientes tratadas con QNA. No existe un consenso claro sobre el momento idóneo para realizar la BSGC, si antes o después de la terapia sistémica. Algunos autores han informado que se obtienen mayores tasas de falsos negativos (TFN) cuando se realiza posterior a la QNA, mientras que otros aseguran que las tasas de identificación del GC son similares a las observadas en pacientes sometidas a BSGC antes del TS (158,159).

Existen fuertes evidencias de que el GC se puede realizar con seguridad después de la terapia neoadyuvante, tanto en pacientes con la axila clínicamente negativa (160), como en aquellas con ganglios clínicamente y patológicamente positivos al inicio del tratamiento pero que se convierten en negativos posterior al TS (161). Además, la BSGC después de QNA proporciona información sobre la enfermedad linfática residual que tiene mayor importancia pronóstica y puede guiar la terapia adicional.

Avanzando aún más en este tema, recientemente se han publicado trabajos donde se evalúa el GC posterior a la QNA en pacientes clínicamente N1 confirmadas por biopsia. Se realiza una nueva técnica quirúrgica, llamada la DA orientada, en la cual se coloca un clip en el ganglio positivo, posteriormente se lleva a cabo la técnica del GC que implica la extracción del ganglio marcado, así como la de los ganglios linfáticos identificados como centinelas. Esto permite evaluar la enfermedad ganglionar residual después de la QNA, ayudando a identificar con seguridad a las pacientes en las que la terapia sistémica ha erradicado toda la neoplasia a nivel del ganglio, ahorrándoles así la morbilidad potencial de la DA (162,163).

Como ya ha quedado demostrado, la BSGC es el procedimiento de elección para la estadificación axilar del cáncer de mama y permite seleccionar un subgrupo de pacientes en los que la linfadenectomía axilar no aporta ningún beneficio adicional. Sin embargo, cabe preguntarnos ¿Cuánto es el riesgo de recidiva axilar en aquellas pacientes que no se le realiza la DA?

Estudios retrospectivos han demostrado que pacientes con GC positivo sin DA muestran un bajo riesgo de recidiva axilar (164–166). El ensayo Z0011 y el estudio IBSCG 23-01 (167,168) muestran resultados que indican que se puede omitir la DA en pacientes con

cáncer de mama en estadios iniciales y metástasis en el GC, tratadas con cirugía conservadora, radioterapia y terapia sistémica, sin que ello afecte la supervivencia y/o la recidiva locoregional. Por estas razones, el uso de la valoración intraoperatoria del GC en el contexto preadyuvante ha ido disminuyendo (167,169).

Por otro lado, en el contexto de la QNA, la evaluación intraoperatoria de GC sigue siendo considerada necesaria. La incorporación de la valoración intraoperatoria mediante el método molecular de OSNA ha superado los resultados del corte congelado y la citología, con resultados definitivos intraoperatorios que producen una sensibilidad del 92% y una TFN del 8% (156).

Diferentes estudios de validación han evaluado el análisis intraoperatorio del GC por el método de OSNA en el entorno neoadyuvante y los resultados han demostrado que el OSNA puede detectar la carga tumoral con la misma precisión que la patología convencional (170,171). Por lo tanto, este es un método molecular que contribuye a la evaluación intraoperatoria precisa, reproducible y estandarizada del GC después de la QNA.

Debido a que el procedimiento estándar para aquellas pacientes con GC positivo después de recibir TS es la DA, el diagnóstico del GC de forma intraoperatoria es fundamental en estas enfermas, ya que pueden someterse a una linfadenectomía dentro de la misma cirugía, evitando los inconvenientes de una segunda intervención (119).





### **3. JUSTIFICACIÓN**



### **3. JUSTIFICACIÓN**

El cáncer de mama es la neoplasia más frecuente en las mujeres y en las últimas décadas hemos visto un cambio de paradigma en el diagnóstico y tratamiento de esta neoplasia. Todo esto debido al nacimiento de nuevas técnicas que nos han permitido conocer que el cáncer de mama es una enfermedad heterogénea que presenta un comportamiento y una respuesta a las terapias diferente.

Mediante el uso de análisis de expresión génica hemos podido saber que existen al menos cuatro subtipos moleculares del cáncer de mama, lo cual ha servido de guía a los equipos médicos a la hora de decidir cual es la opción terapéutica más acertada, aplicando terapias sistémicas específicas que ha demostrado un claro beneficio en términos de la SG, permitiendo incrementar las tasas de CC y mejorando la SLE.

Actualmente se considera que el estado de los ganglios axilares es el factor pronóstico más relevante en los pacientes con cáncer de mama en estadios tempranos. A lo largo de la historia la DA ha supuesto uno de los mayores pilares en el tratamiento de este cáncer, sin embargo la disección de los ganglios linfáticos axilares se asocia con una morbilidad significativa, es por ello que la BSGC se ha convertido en el procedimiento de elección para estadificar la axila permitiendo seleccionar aquellos pacientes en los que la DA no aporta ningún beneficio adicional.

En el escenario preadyuvante se ha demostrado que existen pacientes con características específicas que a pesar de tener el GC con metástasis la DA no les aporta beneficio alguno. Si embargo, en el escenario neoadyuvante continúa siendo mandatorio realizar la DA si el GC muestra algún tipo de metástasis. Es por ello que conocer en tiempo intraoperatorio el estado del GC en este tipo de pacientes es de máxima importancia para

así realizar en un mismo tiempo quirúrgico la DA. En este sentido, analizar el GC por métodos moleculares ha marcado una nueva etapa en el estudio de estos ganglios ya que permite conjugar una alta sensibilidad y especificidad estudiando al GC en su totalidad, lo cual reduce los falsos negativos virtualmente a cero y reemplaza al estudio histológico convencional basado en criterios imprecisos y subjetivos.

Por lo anteriormente expuesto este trabajo se plantea analizar el estado de los GC (estudiados mediante un método molecular ) de las pacientes con cáncer de mama y axila clínicamente negativa que han recibido QNA en el Hospital Sant Joan de Reus en un periodo comprendido entre Febrero del 2011 y Febrero del 2018. Así mismo, busca conocer si existe relación entre los diferentes subtipos moleculares del cáncer de mama y la probabilidad de presentar metástasis ganglionares, como es la respuesta de estos tumores a la TS, si la CTT en el GC se asocia con la probabilidad de tener más ganglios no centinelas afectados, el estado del resto de los ganglios axilares no centinelas y la posibilidad de que en algunas de estas mujeres se pueda omitir la DA.

## **4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**



#### ***4.1 HIPÓTESIS DEL TRABAJO***

La QNA es el tratamiento estándar en el cáncer de mama inoperable, localmente avanzado o inflamatorio, y existen evidencias que apoyan su uso en estadios más precoces, ya que entre sus ventajas se encuentra aumentar la realización de cirugías conservadoras y la valoración in vivo de la quimiosensibilidad tumoral, entre otras.

Una de las principales indicaciones de realizar la DA en las pacientes con GC positivo, es la reducción del riesgo de la recidiva axilar. En la práctica actual se realiza el vaciamiento de los ganglios axilares en todas las pacientes sometidas a QNA que presentan enfermedad en el GC. Si embargo, desde la publicación de los resultados del ensayo Z0011 y del IBSG 23-01, se ha generado un cambio en la práctica clínica; ya que sus datos indican que existe un grupo de pacientes a las cuales se puede evitar la DA a pesar de tener metástasis en el GC, sin que ello afecte la supervivencia y/o la recidiva locoregional.

Tomando en cuenta lo anterior, no sería descabellado pensar que este beneficio también se pueda extrapolar a las mujeres que han recibido QNA con axila clínicamente negativa al inicio del diagnóstico y GC positivo detectado posterior a la terapia sistémica. Por lo tanto, sería interesante pensar si a este subgrupo de pacientes se les podría evitar la DA y todas sus posibles complicaciones, incluyendo linfedema, formación de seroma, disfunción del hombro y pérdida de sensibilidad en la distribución del nervio intercostobraquial.

En el mismo sentido, aunque los subtipos moleculares no tengan influencia en la identificación del GC, sí existen diferencias entre ellos y la respuesta patológica que presentan tras la administración de la QNA. Por ello, es posible que los subtipos

moleculares jueguen algún papel a la hora de seleccionar a aquellas pacientes que se puedan beneficiar de una cirugía axilar más conservadora.

Por lo tanto, la hipótesis que se nos plantea al realizar este trabajo es en primer lugar determinar si la CTT que afecta al GC puede ayudar a predecir el estado del resto de la axila en las pacientes con ganglios axilares clínicamente negativos previo a la administración de la terapia sistémica y con GC positivo posterior a la QNA. Por otro lado, ver si existe alguna relación entre la probabilidad de afectación de los ganglios axilares no centinelas y los subtipos moleculares del cáncer de mama subrogados al estudio inmunohistoquímico (IHQ-4).

#### ***4.2 OBJETIVO GENERAL***

A partir de los datos obtenidos de cada paciente en el momento del diagnóstico y en su posterior seguimiento a través de la revisión de las historias clínicas; así como de la base de datos del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Sant Joan de Reus, se realiza una descripción de las características clínico-patológicas de las pacientes incluidas en la serie con el diagnóstico de carcinoma infiltrante de la glándula mamaria tratadas previamente con QNA y que fueron intervenidas quirúrgicamente en nuestro centro en el periodo comprendido entre Febrero del año 2011 y Febrero del año 2018. Se analizarán descriptivamente aquellos datos clínico-patológicos que tengan un valor pronóstico como edad, grado histológico, tipo tumoral y su respuesta a la terapia sistémica; prestando especial importancia al análisis por método molecular del GC y al estado del resto de los ganglios axilares obtenidos en las linfadenectomías.



#### **4.2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- a) Determinar la eficacia de un método molecular a la hora de analizar al GC de forma intraoperatoria en las pacientes sometidas previamente a QNA.
- b) Valorar si existe relación entre la RPc del tumor y la afectación ganglionar linfática.
- c) Realizar el cálculo de la CTT presente en todos los ganglios centinelas afectos con macro y micrometástasis.
- d) Valorar si la CTT que afecta al ganglio centinela puede predecir el estado del resto de los ganglios axilares.
- e) Ver si la CTT tiene relación con el número de ganglios no centinelas afectos.
- f) Ver si los subtipos tumorales tienen relación con la probabilidad de tener ganglios no centinelas afectos en la axila.
- g) Hacer un seguimiento de la sobrevida libre de enfermedad de las pacientes analizadas en este estudio y su relación con la afectación ganglionar axilar.
- h) Valorar si existe relación estadísticamente significativa entre los diferentes parámetros evaluados.



## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**



## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

### ***5.1 TIPO DE ESTUDIO:***

Estudio de cohorte retrospectivo y descriptivo.

### ***5.2 SELECCIÓN DE LA MUESTRA***

El presente estudio se basa en el análisis de 92 pacientes consecutivas, seleccionadas de 541 mujeres diagnosticadas de cáncer de mama infiltrante estadios cT2-cT3 cN0, las cuales fueron sometidas a QNA y posteriormente a cirugía con BSGC analizado por el método de OSNA en el Hospital Universitario Sant Joan de Reus, en el periodo comprendido entre Febrero del 2011 y Febrero del 2018.

Las pacientes incluidas en este estudio cumplían los siguientes criterios de inclusión:

- Diagnóstico de carcinoma infiltrante de la mama (cT2-cT3).
- Axila clínica y ecosonográficamente negativa en el momento del diagnóstico.
- Haber recibido QNA.
- Identificación del ganglio centinela de manera intraoperatoria.
- Análisis del ganglio centinela por el método de OSNA.

Se excluyeron del estudio los carcinomas inflamatorios, aquellas pacientes cuyos tumores mostraban negatividad para la CK19 en la biopsia por aguja previa al TS, debido a que los GC de estas pacientes no podían ser analizados por el método de OSNA; o si mostraban progresión tumoral durante el transcurso de la quimioterapia.

### **5.3 ESTUDIO CLÍNICO**

De la historia clínica de cada paciente se obtuvieron los siguientes datos: la edad, el tamaño tumoral en el momento del diagnóstico, el tipo de cirugía realizada, el TS administrado, si recibieron radioterapia adyuvante, si se produjeron recidivas, los meses de seguimiento y en caso de muerte de la paciente, si esta era debida al carcinoma o a otras causas.

Para evaluar la axila, a las pacientes se les realizo ultrasonografía axilar y aquellos ganglios que presentaban alguna anormalidad según los criterios y protocolos radiológicos de nuestro centro, se sometieron a estudio con punción por aguja fina (PAF) ecoguiada.

La administración de la QNA se realizo siguiendo los protocolos de nuestro centro y a criterio del oncólogo médico tratante. El esquema secuencial de quimioterapia consistió en administrar una combinación de antraciclinas y taxanos. Las antraciclinas más utilizadas fueron la adriamicina y la ciclofosfamida, a unas dosis de 60 mg/m<sup>2</sup> y 600 mg/m<sup>2</sup>, respectivamente y en régimen de cuatro ciclos cada 21 días. El paclitaxel y el docetaxel, fueron los taxanos más usados, en dosis de 100 mg/m<sup>2</sup> y 80 mg/m<sup>2</sup>, respectivamente.

Todas las pacientes con tumores que presentaban sobreexpresión de HER-2 recibieron adicionalmente tratamiento anti-HER-2 con trastuzumab (Herceptin®) (catorce ciclos a 6 mg/m<sup>2</sup> cada 21 días) y/o pertuzumab (una dosis total de 840 mg repartidas en cuatro ciclos cada 21 días). A las pacientes con tumores TN adicionalmente al régimen con antraciclinas/taxanos se les administró carboplatino.

La cirugía fue practicada entre las 4 y 6 semanas posteriores a la finalización de la QNA.

El tipo de intervención quirúrgica realizada fue CC o mastectomía radical modificada.

Las pacientes con CC recibieron radioterapia adyuvante a dosis máximas de 66 Gy.

#### **5.4 ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO**

De la base de datos del servicio de Anatomía patológica se recopilaron datos como el grado tumoral, el tipo histológico, la respuesta patológica del tumor a la QNA, el número total de GC obtenidos, el número de GC positivos, el tipo de metástasis, el número de copias de ARNm de CK19 interpretadas como la CTT y el estado de los ganglios no centinelas obtenidos de aquellas pacientes a las cuales se les realizó la linfadenectomía.

El subtipo molecular intrínseco del tumor subrogado al uso de la IHQ, se determinó tomando en cuenta los siguientes parámetros expresados en los informes de la biopsia con aguja previa al tratamiento neoadyuvante :

- El porcentaje de positividad de los RE y RP, tomando como positivo una expresión nuclear en más del 1% de las células tumorales.
- El índice de proliferación celular medido mediante el uso del Ki67, utilizando como punto de corte 14% de núcleos tumorales positivos para este marcador.
- La oncoproteína HER-2 se catalogó como negativa en aquellos tumores con una expresión de 0-1+/3+, positiva 3+/3+ y dudosa 2+/3+. En este último grupo se debió realizar la determinación de la amplificación del gen HER-2 mediante el uso del método de hibridación in situ (SISH), según la última actualización del año 2013 de las recomendaciones para determinar y evaluar al HER-2 de la sociedad americana de oncólogos clínicos (ASCO) y el colegio americano de patólogos (CAP).

Así, los tumores se clasificaron como:

**Luminal-A:** RE+ / HER-2- / Ki67 <14% / RP >20%

**Luminal-B:** RH+ / HER-2- / Ki67  $\geq$ 14%

RH+ / HER-2+ / Ki67  $\geq$ 14%

RE+ / HER-2- / Ki67 <14% / RP <20%

**HER-2-enriquecido:** RH- / HER-2+

**Triple negativo:** RH- / HER-2-

## ***5.5 DETECCIÓN DEL GANGLIO CENTINELA***

De 2 a 24 horas previas a la intervención quirúrgica, a las pacientes se les aplicó la técnica para detectar al GC a cargo del servicio de Medicina Nuclear. Esta técnica se lleva a cabo en nuestro centro mediante la inyección intratumoral en las lesiones palpables de 3-4 mCi/ml de tecnecio preparado como solución inyectable de albúmina humana marcada con nanocoloide de  $^{99m}\text{Tc}$ . Si la lesión no es palpable se utiliza la técnica SNOLL (Sentinel Node and Occult Lesion Localization), en la cual la inyección del radiofármaco es ecodirigida.

Posteriormente, se practicó una linfogammagrafía para identificar al GC. Se identificó como GC, al ganglio o ganglios visualizados, especialmente si estaban conectados a un canal linfático y una vez confirmados se marcó su localización sobre la piel. En la cirugía, se consideraron GC a los identificados en el territorio determinado por la



linfogramagrafía que presentaban actividad con la sonda detectora gamma en el lecho quirúrgico.

### ***5.6 EVALUACIÓN INTRAOPERATORIA DEL GANGLIO CENTINELA CON EL MÉTODO DE OSNA***

En el servicio de Anatomía Patológica se recibieron los ganglios centinelas en fresco (sin fijar). El tejido graso periganglionar fue removido para su evaluación posterior por métodos histológicos convencionales después de su fijación en formol al 10% y de ser embebidos en parafina. En el procesamiento del ganglio se siguieron los siguientes pasos:

- La muestra fue pesada y cortada a lo largo de su eje menor. Debido a que los calibradores del equipo de amplificación génica RD100i (Sysmex ®) están ajustados a un peso por muestra mínimo de 40 mg y máximo de 600 mg, el peso del ganglio debía estar entre estos rangos, si su peso era inferior a 4 mg no se podía procesar por este método y un peso superior a 600 mg obligaba a dividir la muestra al menos en dos partes cuyo peso se encontrara entre los límites referidos.
- Se realizaron improntas citológicas del ganglio seccionado para disponer de una correlación morfológica.
- A continuación, la muestra recibida se homogenizó en su totalidad con 4 ml de solución buffer (Lynorhag-Sysmex Corp.; Kobe, Japón), con centrifugación posterior a 10.000 rpm.
- Una vez obtenido el homogenizado, se tomó un total de 2µl del sobrenadante. Este se suspendió en 180 µl de LynoampBC (Sysmex®) a dos concentraciones distintas (concentrada y diluida; dilución 1:10), siguiendo las instrucciones del

fabricante (Sysmex®). Ambas muestras se incluyeron en el equipo de amplificación génica (RD100i, Sysmex®) para su análisis, a una temperatura isoterma de 65 °C en un tiempo aproximado de 16 minutos, sin necesidad de realizar una previa extracción y purificación de ARNm. El tejido homogenizado restante, se conservó mediante congelación a -80 °C. El flujo de trabajo para la preparación de la muestra se esquematiza en la figura 3.

**Figura 3. Flujo de trabajo para la preparación de la muestra.**

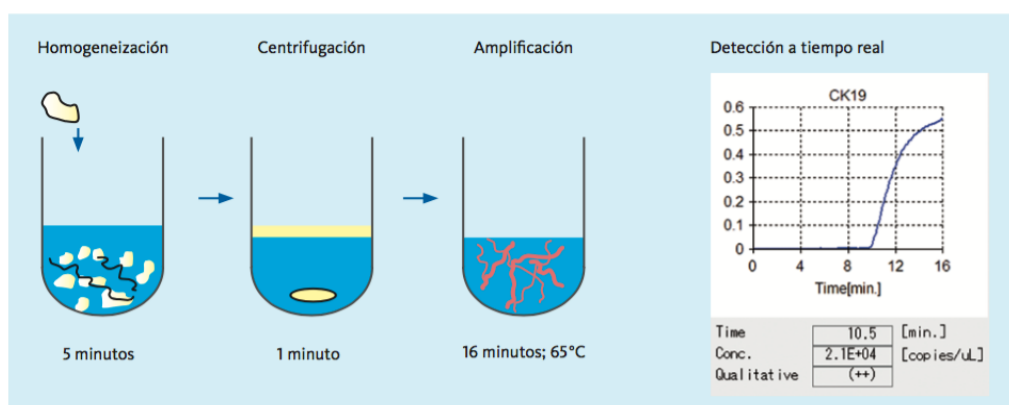


Figura aportada por Sysmex España S.L.

El equipo de amplificación RD-100i incluye cinco cubetas dobles de amplificación, una para los controles positivo y negativo y las otras cuatro para las muestras problema en dos concentraciones distintas, a fin de evitar que los posibles inhibidores impidan la correcta cuantificación de las copias de ARNm de CK19 de la muestra. El equipo RD100i permite la amplificación simultánea de un máximo de cuatro muestras, con pequeños incrementos en el tiempo de estudio por cada muestra y un tiempo total de 30 minutos.

La cuantificación del número de copias de ARNm de CK19 se basa en la medida de la turbidez generada por el pirofosfato de magnesio liberado en la reacción de amplificación, de escasa solubilidad en medio acuoso, y que precipita cuando su concentración alcanza

la saturación. La turbidez de la reacción medida cada 6 segundos permite monitorizar la reacción de amplificación y correlacionarla con la cantidad de ARNm de CK19 que hay en la muestra, y esta a su vez se correlaciona con el número de células tumorales.

El sistema incluye controles adecuados para testar la calidad del ARNm, control positivo con un número de copias definido de ARNm de CK19 para la calibración del equipo, y un control negativo para asegurar la ausencia de contaminación. El método de OSNA expresa los resultados basado en puntos de corte determinados por análisis estadísticos de la distribución logarítmica normal del número de copias de ARNm de CK19 obtenido del estudio realizado por Tsujimoto y cols (156).

Los resultados son expresados de acuerdo al número de copias de ARNm de CK19 detectadas, de la siguiente manera:

1. Negativo (-):  $< 250$  copias/ $\mu$ L ( $< 2.5 \times 10^2$  copias/ $\mu$ L).
2. Células tumorales aisladas (CTA) (-) L: entre 100 y 250 copias/ $\mu$ L ( $< 2.5 \times 10^2$  copias/ $\mu$ L).
3. Micrometástasis (microMT) (+): 250-5.000 copias /  $\mu$ L ( $2.5 \times 10^2$  -  $5 \times 10^3$  copias/ $\mu$ L).
4. Macrometástasis (macroMT) (++):  $> 5.000$  copias /  $\mu$ L ( $> 5 \times 10^3$  copias/ $\mu$ L).

Adicionalmente, se realizó el cálculo de la CTT de cada paciente mediante la suma de las copias de ARNm de CK19 de todos los GC positivos analizados por OSNA. La linfadenectomía de los niveles axilares I y II fue realizada en el mismo acto quirúrgico, en aquellas pacientes con resultados positivos para macro y micrometástasis en el GC. Los ganglios extraídos de la DA fueron procesados posteriormente para su estudio por

métodos histológicos convencionales. Posterior a su fijación en formol, se realizaron cortes a lo largo del eje mayor del ganglio en secciones de aproximadamente 2 mm de espesor, que luego se embebieron en parafina y se tiñeron con hematoxilina y eosina (H-E). Se utilizó tinción IHQ para CK a discreción del patólogo.

### ***5.7 ANÁLISIS DE DATOS***

En el presente estudio se utilizaron métodos estadísticos descriptivos para definir las características de las pacientes y facilitar la descripción de los resultados. Se usaron variables cuantitativas como el promedio y los valores mínimos y máximos, además se completó el análisis de los resultados con el uso de gráficos de barras y su expresión en porcentajes.

## **6. RESULTADOS**



## **6. RESULTADOS**

### ***6.1 ANÁLISIS CLÍNICO Y PATOLÓGICO***

De un total de 541 pacientes con cáncer de mama y estudio de la BSGC por método de OSNA se eligieron 92 de ellas con axila clínicamente negativa, las cuales habían recibido TS previo a la cirugía. El análisis clínico descriptivo se ha llevado a cabo tomando en cuenta las características clínico-patológicas de las 92 pacientes incluidas en este estudio, estas características se describen a continuación y se resumen en la siguiente tabla (**Tabla 11**).

#### **6.1.1 DISTRIBUCIÓN POR EDADES**

La edad promedio de las pacientes fue de 52,45 años, con un rango que variaba entre 32 y 79 años. El 54,35% (50) de las pacientes tenían 50 o más años, mientras que el 45,65% (42) eran menores de 50 años en el momento del diagnóstico.

#### **6.1.2 GRADO Y TIPO HISTOLÓGICO**

En 84 (91,30%) pacientes el tumor fue clasificado en la biopsia por aguja previa al TS como carcinoma infiltrante de tipo no especial (CTNE) y en 8 (8,70%) de ellas como carcinomas infiltrantes de tipo especial (CTE) (**Gráfica 1**).

Entre los carcinomas CTE encontramos tres carcinomas papilares invasivos, los cuales representan el 37,5% de este subgrupo, dos carcinomas lobulillares invasivos (25%), dos carcinomas medulares (25%) y un carcinoma metaplásico (12,5%).

Con respecto al grado histológico, 56 pacientes (60,87%) presentaron carcinomas de alto grado histológico (grado 3) y 36 (39,13%) presentaron tumores moderadamente

diferenciados (grado 2), previo al TS. No se hallaron carcinomas de bajo grado (grado 1)  
 (Gráfica 2).

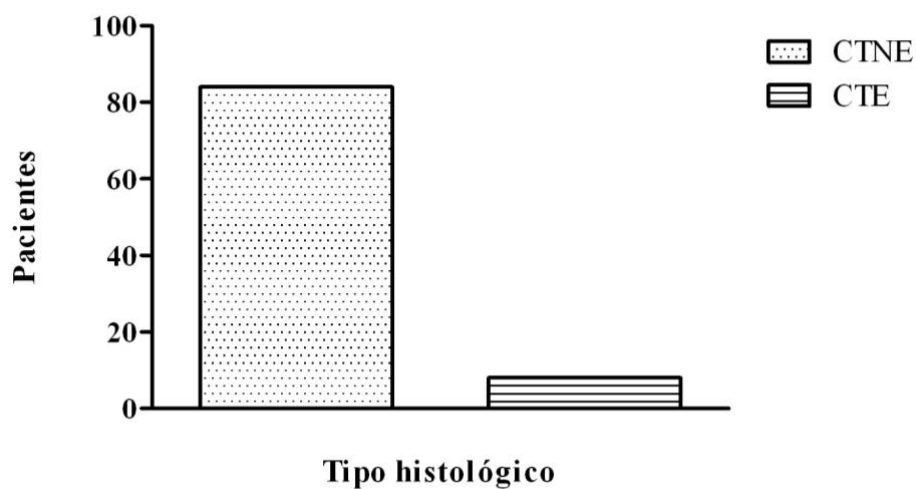
**Tabla 11. Características de las pacientes y del tipo tumoral.**

Características	Nº	%
<b>Edad</b>		
<50 años	42	45,65
≥50 años	50	54,35
<b>Tipo histológico</b>		
CTNE	84	91,30
CTE	8	8,70
<b>Grado histológico</b>		
1	0	0
2	36	39,13
3	56	60,87
<b>Tipo tumoral IHQ-4</b>		
Luminal A	3	3,26
Luminal B	57	61,96
HER-2	14	15,22
Triple negativo	18	19,56

CTNE: carcinoma de tipo no especial. CTE: carcinoma de tipo especial. IHQ-4: inmunohistoquímica usando los 4 biomarcadores.

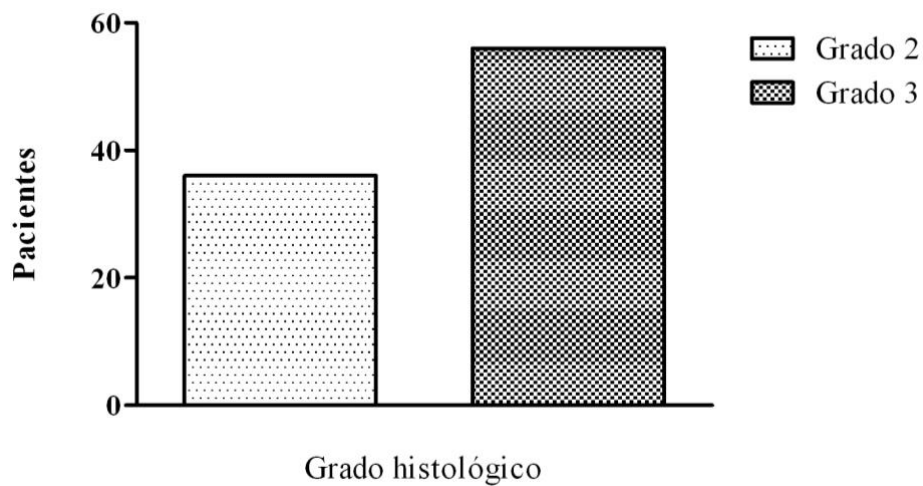


**Gráfica 1. Distribución de los tumores de acuerdo al tipo histológico (N=92).**



CTNE: carcinoma de tipo no especial. CTE: carcinoma de tipo especial.

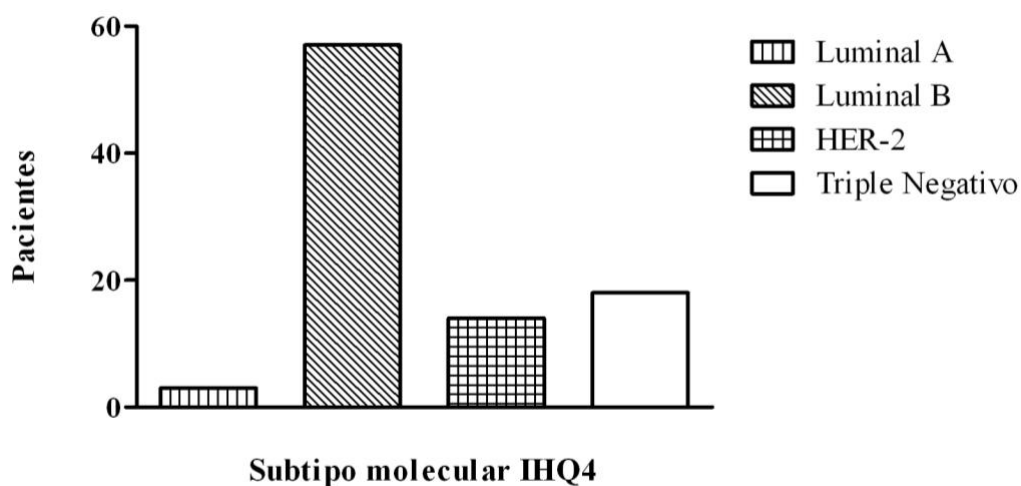
**Gráfica 2. Distribución de los tumores de acuerdo al grado histológico (N=92).**



### 6.1.3 SUBTIPO TUMORAL INTRÍNSECO SEGÚN EL SISTEMA IHQ-4

Usando la IHQ para tipificar los tumores en subtipos intrínsecos, Luminal B fue el tipo tumoral más frecuentemente observado, en 57 (61,96%) pacientes. De estos 57 tumores, 26 presentaban sobreexpresión y/o amplificación de HER-2 (45,61%). Fueron seguidos en orden decreciente por el subtipo TN en 18 (19,56%), HER-2 enriquecido en 14 (15,22%) y Luminal A en 3 (3,26%) pacientes (**Gráfica 3**).

**Gráfica 3. Subtipo tumoral intrínseco según el sistema IHQ-4 (N=92).**



---

IHQ-4: inmunohistoquímica usando los 4 biomarcadores

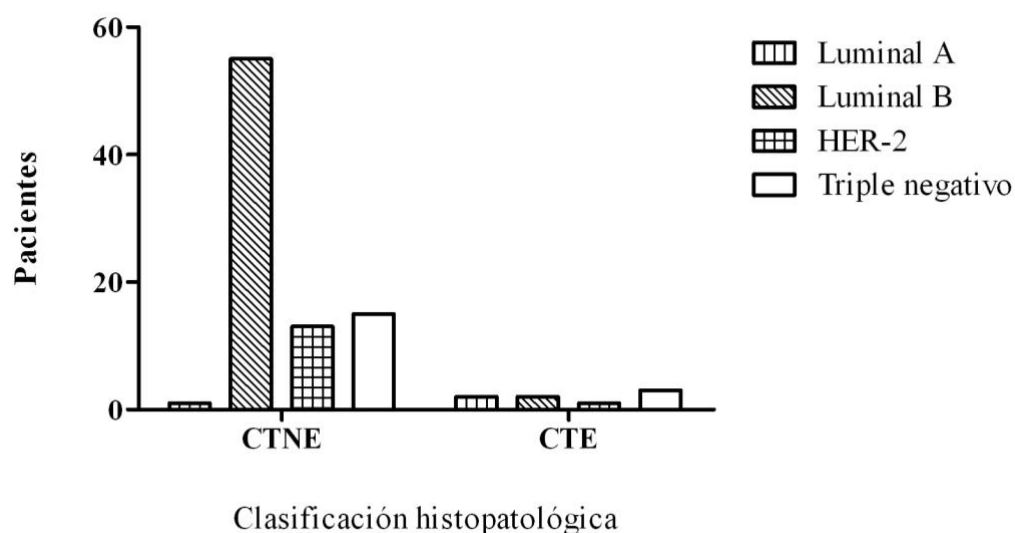
### 6.1.4 CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA Y SUBTIPOS INTRÍNSECOS

Tomando en cuenta la clasificación histológica de los carcinomas de mama en CTNE y en CTE, además de la clasificación molecular subrogada por IHQ, encontramos que (**Gráfica 4**):

- El grupo Luminal A se encontraba constituido por dos CTE, ambos carcinomas lobulillares invasivos y un CTNE.

- Los tumores Luminales B, 55 (96,49%) fueron clasificados histológicamente como CTNE y 2 (3,51%) como CTE, siendo estos últimos un carcinoma papilar y un carcinoma medular.
- El grupo HER-2 enriquecido estuvo constituido por 13 (92,86%) CTNE y un CTE, representado por un carcinoma papilar (7,14%)
- En el grupo de los TN, 15 (83,33%) fueron CTNE y 3 (16,67%) CTE, estos últimos constituidos por un carcinoma papilar, un medular y un metaplásico.

**Gráfica 4. Distribución de los tumores de acuerdo a la clasificación histológica y el subtipo tumoral intrínseco IHQ-4 (N=92).**



CTNE: carcinoma de tipo no especial. CTE: carcinoma de tipo especial. IHQ-4: inmunohistoquímica usando los 4 biomarcadores

### 6.1.5 PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO REALIZADO

La CC fue el procedimiento quirúrgico más utilizado. Se practicó en 73 pacientes, representando el 79,35% de las intervenciones realizadas. En las 19 pacientes restantes se realizó mastectomía radical modificada, representando el 20,65% de las cirugías practicadas.

### 6.1.6 RESPUESTA PATOLÓGICA DEL TUMOR AL TRATAMIENTO SISTÉMICO

En la evaluación anatomopatológica de las piezas quirúrgicas se demostró que 59 (64,13%) tumores presentaron una RPP, mientras que 28 (30,44%) de ellos mostraron una RPc y en 5 (5,43%) no se observó respuesta al TS. Tomando en cuenta la respuesta patológica según los subtipos intrínsecos por IHQ-4, tenemos que (**Tabla 12**) (**Gráfica 5 y 6**):

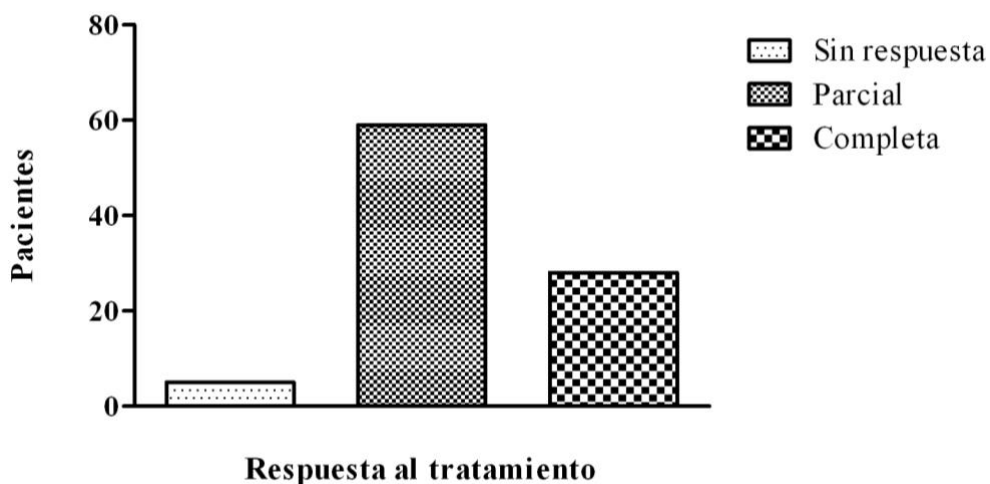
- Dos de los tumores (66,67%) que conformaron el grupo Luminal A mostraron una RPP y uno mostró una RPc (33,33%). En este grupo tumoral no hubo tumores sin respuesta al TS.
- En el grupo de los tumores Luminal B, 46 (80,70%) presentaron una RPP, 8 (14,04%) una RPc y 3 (5,26%) tumores no presentaron respuesta al TS.
- En el grupo de los tumores HER-2 enriquecido, 3 (21,43%) mostraron una RPP, mientras que 11 (78,57%) de estos mostraron una RPc. En este grupo tumoral no hubo tumores sin respuesta al TS.
- En el grupo de los tumores TN, 8 (44,44%) presentaron una RPP, 8 (44,44%) una RPc y 2 (11,11%) no mostraron respuesta al TS.

**Tabla 12. Tipos de respuesta patológica según los subtipos intrínsecos IHQ-4.**

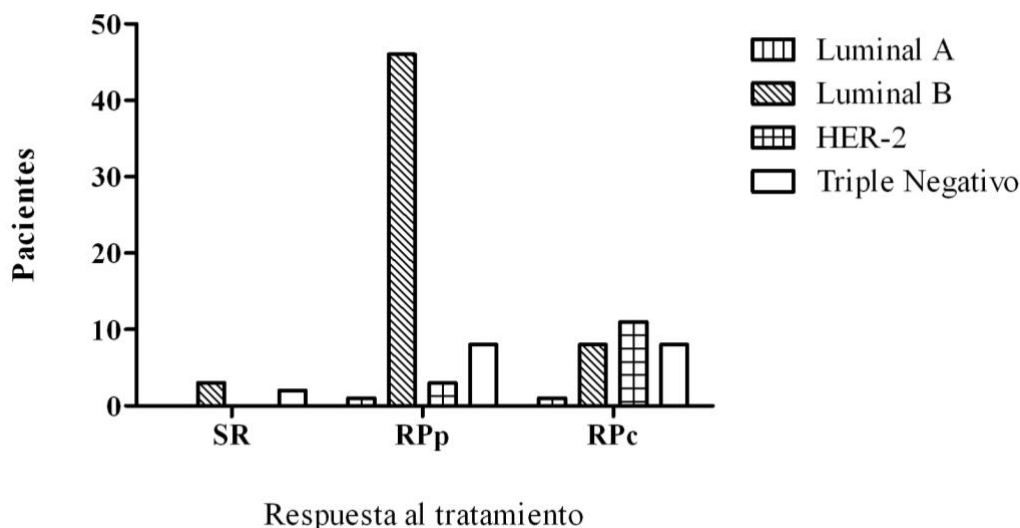
Tipo tumoral	Sin respuesta n (%)	Respuesta parcial n (%)	Respuesta completa n (%)
<b>Luminal A</b>	0	2 (66,67)	1 (33,33)
<b>Luminal B</b>	3 (5,26)	46 (80,70)	8 (14,04)
<b>HER-2</b>	0	3 (21,43)	11 (78,57)
<b>Triple negativo</b>	2 (11,11)	8 (44,44)	8 (44,44)

IHQ-4: inmunohistoquímica usando los 4 biomarcadores.

**Gráfica 5. Respuesta patológica tumoral al tratamiento sistémico (N=92).**



**Gráfica 6. Respuesta patológica tumoral al tratamiento sistémico según los subtipos intrínsecos IHQ-4 (N=92).**



IHQ-4: inmunohistoquímica usando los 4 biomarcadores SR: sin respuesta. RPp: respuesta patológica parcial. RPc: respuesta patológica completa.

En la valoración general de la respuesta patológica del tumor al TS según el sistema de Miller y Payne, se evidenció que 5 (5,44%) tumores fueron catalogados con una respuesta Grado 1, 13 (14,13%) con un Grado 2, 25 (27,17%) con un Grado 3, 21 (22,83%) con un Grado 4 y 28 (30,43%) con un Grado 5. El grado más observado fue el Grado 5.

Según los subtipos intrínsecos (**Tabla 13**):

- Los tumores Luminal A mostraron una respuesta Grado 2, Grado 4 y Grado 5.
- En los casos Luminal B, 3 (5,26%) de estos tumores se catalogaron con una respuesta Grado 1, 9 (15,79%) con un Grado 2, 23 (40,35%) con un Grado 3, 14 (24,56%) con un Grado 4 y 8 (14,04%) con un Grado 5.

- Con respecto a los tumores HER-2 enriquecidos, 1 (7,14%) mostró una respuesta Grado 2, 2 (14,29%) una respuesta Grado 4 y 11 (78,57%) un Grado 5. No se observaron tumores con respuesta Grado 1 ni Grado 3.
- En los tumores TN, 2 (11,11%) de estos tumores se catalogaron con una respuesta Grado 1, 2 (11,11%) con un Grado 2, 2 (11,11%) con un Grado 3, 4 (22,22%) con un Grado 4 y 8 (44,44%) con un Grado 5.

**Tabla 13. Grado de la respuesta patológica del tumor al tratamiento sistémico usando el sistema de Miller y Payne y según los subtipos intrínsecos IHQ-4.**

Grado de Miller y Paine	Luminal A n (%)	Luminal B n (%)	HER-2 n (%)	Triple negativo n (%)
<b>1</b>	0	3 (5,26%)	0	2 (11,11%)
<b>2</b>	1 (33,33%)	9 (15,79%)	1 (7,14%)	2 (11,11%)
<b>3</b>	0	23 (40,35%)	0	2 (11,11%)
<b>4</b>	1 (33,33%)	14 (24,56%)	2 (14,29%)	4 (22,22%)
<b>5</b>	1 (33,33%)	8 (14,04%)	11 (78,57%)	8 (44,44%)

IHQ-4: inmunohistoquímica usando los 4 biomarcadores.

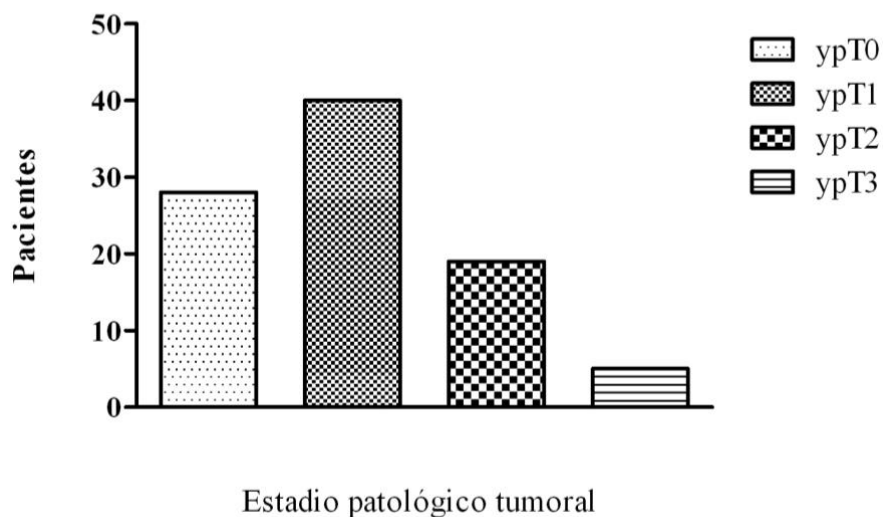
De manera general, el estadio patológico tumoral reasignado según el tamaño tumoral observado posterior al TS y de acuerdo a la clasificación TNM (ypT) puede verse en la siguiente tabla (**Tabla 14**) (**Gráfica 7**).

**Tabla 14. Estadio patológico tumoral posterior al tratamiento sistémico (ypT).**

Estadio patológico tumoral posterior al TS	Nº	%
<b>ypT0</b>	28	30,44
<b>ypT1</b>	40	43,48
<b>ypT2</b>	19	20,65
<b>ypT3</b>	5	5,43

TS: tratamiento sistémico. ypT: estadio patológico tumoral posterior al TS.

**Gráfica 7. Estadio patológico tumoral posterior al tratamiento sistémico (ypT) (N=92).**





Según los subtipos intrínsecos (**Tabla 15**) (**Gráfica 8**):

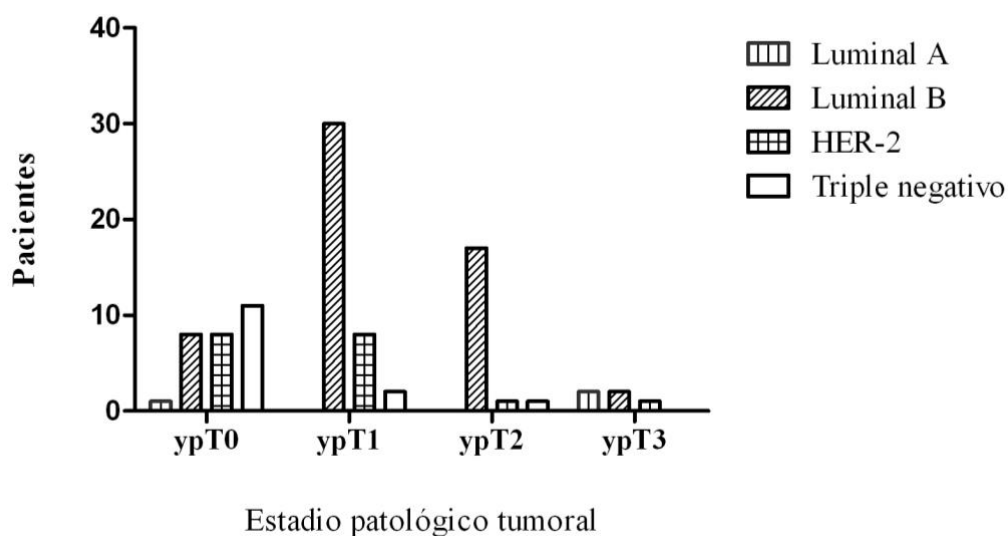
- Dos (66,67%) de los tumores Luminal A fueron reasignados con el estadio tumoral ypT3 y uno con ypT0 (33,33%).
- En los tumores Luminal B, 8 (14,04%) fueron reasignados con el estadio tumoral ypT0, 30 (52,63%) con ypT1, 17 (29,82%) con ypT2 y 2 (3,51%) con ypT3.
- Con respecto a los tumores HER-2 enriquecido, 11 (78,57%) de estos tumores fueron reasignados con el estadio tumoral ypT0, 2 (14,29%) con ypT1 y 1 (7,14%) con ypT2. En este grupo no hubo tumores reasignados con el estadio tumoral ypT3.
- En los casos TN, 8 (44,44%) de estos tumores fueron reasignados con el estadio tumoral ypT0, 8 (44,44%) con ypT1, 1 (5,56%) con ypT2, y 1 (5,56%) con ypT3 .

**Tabla 15. Estadio patológico tumoral posterior al tratamiento sistémico (ypT) según los subtipos intrínsecos IHQ-4.**

Estadio patológico tumoral posterior al TS	Luminal A (%)	Luminal B (%)	HER-2 (%)	Triple negativo (%)
<b>ypT0</b>	1 (33,33)	8 (14,04)	11 (78,57)	8 (44,44)
<b>ypT1</b>	0	30 (52,63)	2 (14,29)	8 (44,44)
<b>ypT2</b>	0	17 (29,82)	1 (7,14)	1 (5,56)
<b>ypT3</b>	2 (66,67)	2 (3,51)	0	1 (5,56)

IHQ-4: inmunohistoquímica usando los 4 biomarcadores. TS: tratamiento sistémico. ypT: estadio patológico tumoral posterior al TS.

**Gráfica 8. Estadio patológico tumoral posterior al tratamiento sistémico (ypT) según los subtipos intrínsecos IHQ-4 (N=92).**



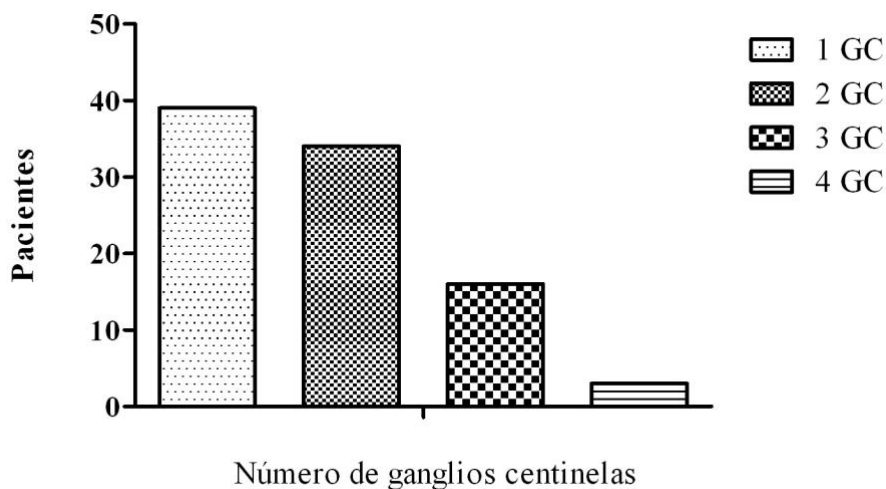
IHQ-4: inmunohistoquímica usando los 4 biomarcadores.

#### 6.1.7 CARACTERÍSTICAS DE LOS GANGLIOS CENTINELAS

Un total de 167 GC fueron obtenidos de las 92 pacientes evaluadas. Estos ganglios se analizaron en su totalidad por el método molecular de OSNA, con un promedio de 2 GC por paciente en un rango que variaba de 1 hasta 4 ganglios analizados. La distribución de los GC obtenidos por pacientes se detalla a continuación (**Gráfica 9**):

- En 39 pacientes se obtuvo 1 GC.
- En 34 pacientes se obtuvieron 2 GC.
- En 16 pacientes se obtuvieron 3 GC.
- En 3 pacientes se obtuvieron 4 GC.

**Gráfica 9. Número promedio de ganglios linfáticos centinelas obtenidos por paciente (N=92).**

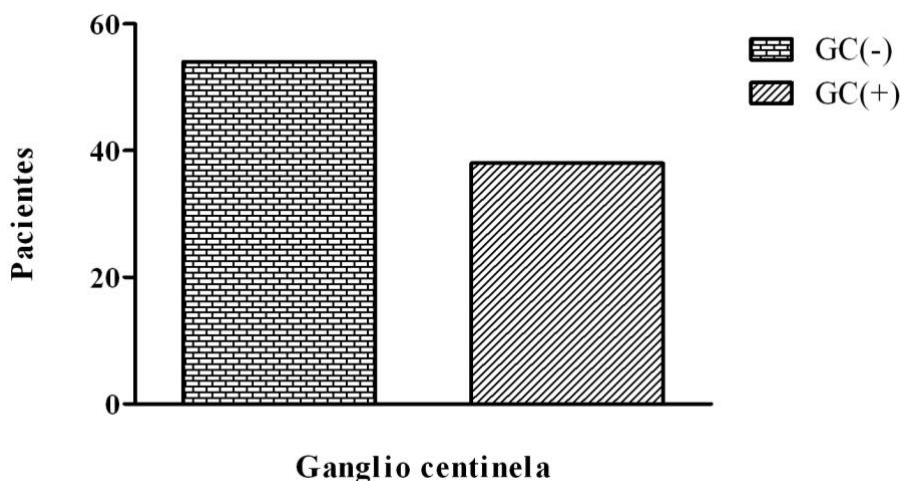


GC: Ganglio centinela.

#### 6.1.8 RESULTADOS DEL ANÁLISIS DEL GANGLIO CENTINELA POR EL MÉTODO DE OSNA

De las 92 pacientes cuyos GC se analizaron por OSNA, 38 (41,30%) de ellas tuvieron el GC positivo y en 54 (58,70%) el GC fue negativo (**Gráfica 10**).

**Gráfica 10. Resultados del ganglio centinela por el método de OSNA (N=92).**



GC: Ganglio centinela. (-): Negativo. (+): Positivo.

### 6.1.8a CARACTERÍSTICAS DE LOS GANGLIOS CENTINELAS POSITIVOS

Estos ganglios mostraron un solo tipo de metástasis (MT) o una combinación entre ellas.

De esta manera 6 de las 38 pacientes con GC positivo tuvieron una macroMT, 24 con microMT, 2 con una combinación de macroMT y microMT, una paciente con la combinación de macroMT/ CTA y cinco de ellas con CTA. Tomando el valor de mayor importancia para categorizar el tipo de MT, la distribución quedó de la siguiente manera **(Tabla 16) (Gráfica 11)**:

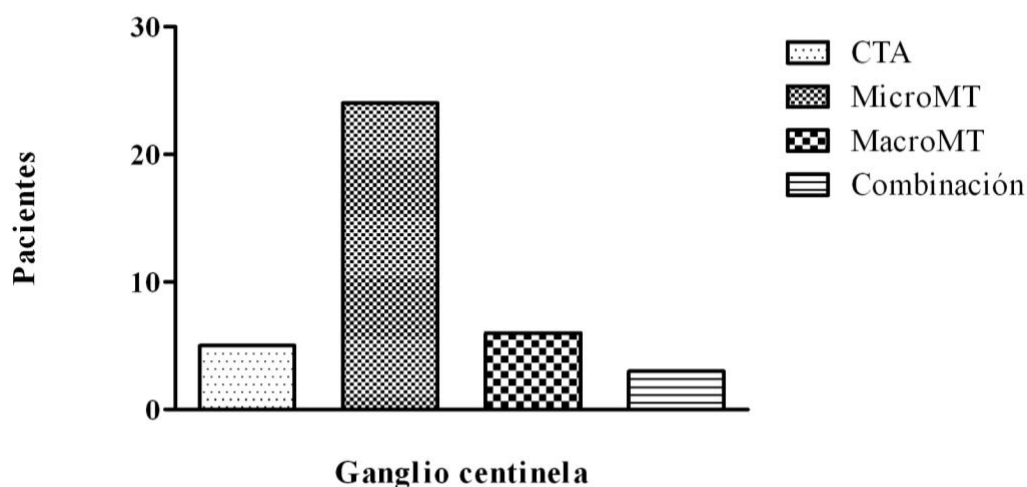
- 9 (23,68%) pacientes con macroMT.
- 24 (63,16%) pacientes con microMT.
- 5 (13,16%) pacientes con CTA.

**Tabla 16. Distribución del tipo de metástasis en los ganglios centinelas.**

Tipo de MT	Nº de pacientes con GC afectados
MacroMT	6
MicroMT	24
MacroMT/microMT	2
MacroMT/CTA	1
CTA	5

MT: metástasis. MacroMT: macrometástasis. MicroMT: micrometástasis. CTA: células tumorales aisladas. GC: ganglio centinela.

**Gráfica 11. Distribución del tipo de metástasis en los ganglios centinelas (N=92).**



CTA: Células tumorales aisladas. MicroMT: Micrometástasis. MacroMT: Macrometástasis.

#### 6.1.8b CARACTERÍSTICAS DE LAS PACIENTES CON GANGLIO CENTINELA POSITIVO

Este grupo estuvo constituido por 38 mujeres con edades comprendidas entre los 32 y 72 años, con una edad promedio de 50 años. Histológicamente, 34 (89,47%) de los tumores de este grupo fueron diagnosticados como CTNE, mientras que 4 (10,53%) fueron diagnosticados como CTE, representados por dos carcinomas lobulillares, un carcinoma papilar y un carcinoma medular. A 21 (55,26%) de estos tumores se les asignó un grado histológico 3 y a 17 (44,74%) un grado histológico 2.

El subtipo tumoral predominante fue el Luminal B, observado en 27 (71,05%) pacientes, seguido del tipo HER-2 enriquecido en 5 (13,16%), el TN en 4 (10,53%) y el Luminal A en 2 (5,26%) (**Tabla 17**). La distribución del tipo de metástasis observadas en los GC y

su relación con el subtipo tumoral intrínseco se especifican en la siguiente tabla (**Tabla 18)** (**Gráfica 12**).

El estadio patológico tumoral reasignado según el tamaño tumoral observado posterior al TS y de acuerdo a la clasificación TNM (ypT), se muestra a continuación:

- 8 (21,05%) ypT0
- 17 (44,74%) ypT1
- 9 (23,68%) ypT2
- 4 (10,53%) ypT3

De acuerdo a la valoración de respuesta tumoral al TS según el sistema de Miller y Payne:

- 3 (7,90%) Grado 1
- 8 (21,05%) Grado 2
- 8 (21,05%) Grado 3
- 11 (28,95%) Grado 4
- 8 (21,05%) Grado 5

**Tabla 17. Características clínico-patológicas de las pacientes con ganglio centinela positivo.**

Características	Nº	%
<b>Edad</b>		
<50 años	22	57,89
≥50 años	16	42,11
<b>Tipo histológico</b>		
CTNE	34	89,47
CTE	4	10,53
<b>Grado histológico</b>		
1	0	0
2	17	44,74
3	21	55,26
<b>Tipo tumoral IHQ-4</b>		
Luminal A	2	5,26
Luminal B	27	71,05
HER-2	5	13,16
Triple negativo	4	10,53
<b>Estadio patológico (ypT)</b>		
ypT0	8	21,05
ypT1	17	44,74
ypT2	9	23,68
ypT3	4	10,53

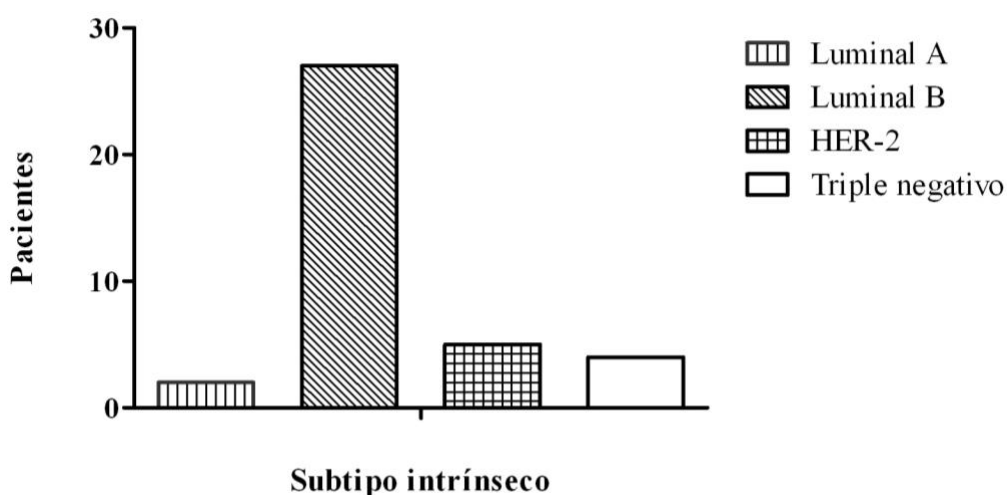
CTNE: carcinoma de tipo no especial. CTE: carcinoma de tipo especial. IHQ-4: inmunohistoquímica usando los 4 biomarcadores.

**Tabla 18. Distribución del tipo de metástasis según el subtipo tumoral intrínseco IHQ-4.**

Tipo de MT	Luminal A	Luminal B	HER-2	Triple negativo
MacroMT		6		
MicroMT	2	15	4	3
Macro/microMT		2		
MacroMT/CTA		1		
CTA		3	1	1

IHQ-4: inmunohistoquímica usando los 4 biomarcadores. MT: metástasis. MacroMT: macrometástasis. MicroMT: micrometástasis. CTA: células tumorales aisladas.

**Gráfica 12. Subtipo tumoral intrínseco IHQ-4 en las pacientes con ganglio centinela positivo (N=38).**



IHQ-4: inmunohistoquímica usando los 4 biomarcadores.



### 6.1.8c CARACTERÍSTICAS DE LAS PACIENTES CON GANGLIO CENTINELA NEGATIVO

Este grupo estaba constituido por 54 mujeres con edades comprendidas entre los 33 y 79 años, con una edad promedio de 54,16 años. El tipo histológico tumoral más frecuente fue el CTNE, en 50 pacientes. Mientras que 4 tumores fueron diagnosticados como CTE, representados por dos carcinomas papilares, un carcinoma medular y un carcinoma metaplásico. El subtipo tumoral predominante fue el Luminal B, observado en 30 pacientes, seguido del tipo TN en 14, el HER-2 enriquecido en 9 y el Luminal A en una paciente (**Gráfica 13**). El grado histológico 3 fue asignado a 35 tumores y el grado 2 a 19 (**Tabla 19**).

El estadio patológico tumoral reasignado según el tamaño tumoral observado posterior al TS y de acuerdo a la clasificación TNM (ypT):

- 20 (37,04%) ypT0
- 23 (42,59%) ypT1
- 10 (18,52%) ypT2
- 1 (1,85%) ypT3

De acuerdo a la valoración de respuesta tumoral al TS según el sistema de Miller y Payne:

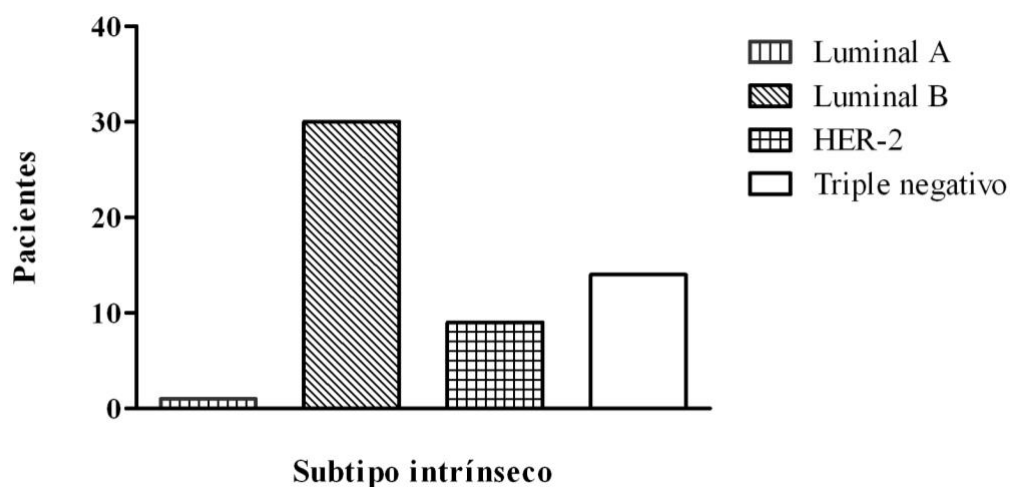
- 2 (3,70%) Grado 1
- 5 (9,26%) Grado 2
- 17 (31,48%) Grado 3
- 10 (18,52%) Grado 4
- 20 (37,04%) Grado 5

**Tabla 19. Características clínico-patológicas de las pacientes con ganglio centinela negativo.**

Características	Nº	%
<b>Edad</b>		
<50 años	20	37,04
≥50 años	34	62,96
<b>Tipo histológico</b>		
CTNE	50	92,59
CTE	4	7,41
<b>Grado histológico</b>		
1	0	0
2	19	35,19
3	35	64,81
<b>Tipo tumoral IHQ-4</b>		
Luminal A	1	1,85
Luminal B	30	55,55
HER-2	9	16,67
Triple negativo	14	25,93
<b>Estadio patológico (ypT)</b>		
ypT0	20	37,04
ypT1	23	42,59
ypT2	10	18,52
ypT3	1	1,85

CTNE: carcinoma de tipo no especial. CTE: carcinoma de tipo especial. IHQ-4: inmunohistoquímica usando los 4 biomarcadores.

**Gráfica 13. Subtipo tumoral intrínseco IHQ-4 en las pacientes con ganglio centinela negativo (N=54).**



IHQ-4: inmunohistoquímica usando los 4 biomarcadores.

#### 6.1.9 CÁLCULO DE LA CARGA TUMORAL TOTAL

Al realizar el cálculo de la CTT obtuvimos como valor mínimo calculable  $2.70 \times 10^2$  (270 copias/ $\mu$ l) interpretado como microMT, y como valor máximo  $2.19 \times 10^5$  (2.190.000 copias/ $\mu$ l), interpretado como macroMT. El valor promedio de la CTT fue de 83.165 copias/ $\mu$ l. El valor de las copias en los ganglios con CTA fue menor de 250/ $\mu$ l.

#### 6.1.10 DISECCIÓN AXILAR

La DA se realizó en 33 de las 38 pacientes con GC positivo. De las linfadenectomías se obtuvieron un total de 523 ganglios, con un promedio de 15,85 ganglios por paciente y con un número mínimo de 8 y un máximo de 29 ganglios. Todos los ganglios no centinelas se analizaron por método histológico convencional.

### 6.1.10a PACIENTES CON GANGLIO CENTINELA POSITIVO SIN DISECCIÓN AXILAR

A una de las pacientes con microMT en el GC y a cuatro de las cinco pacientes con CTA no se les realizó la DA debido a una interpretación de la baja carga tumoral como un resultado negativo. Sus edades estaban comprendidas entre los 42 y 72 años de edad. Todos los tumores en este grupo de pacientes se clasificaron histológicamente como CTNE. El subtipo tumoral intrínseco predominante fue el Luminal B en 4 pacientes, 2 de ellos Luminal B/HER-2+ y un tumor HER-2 enriquecido. El estadio patológico tumoral posterior al TS fue ypT1 y ypT0, respectivamente. Sus características se describen en la

**Tabla 20.**

**Tabla 20. Características de las pacientes con ganglio centinela positivo sin disección axilar.**

EDAD (años)	Estadio patológico tumoral	Tipo IHQ-4	Tipo histológico	Nº de G C	Nº de G C con MT	Tipo de MT	CTT (copias/µl)
42	ypT1	Luminal B/HER-2+	CTNE	1	1	CTA	<250
43	ypT1	Luminal B/HER-2+	CTNE	3	1	CTA	<250
54	ypT1	Luminal B	CTNE	3	1	CTA	<250
60	ypT1	Luminal B	CTNE	2	1	MicroMT	1.100
72	ypT0	HER-2	CTNE	3	1	CTA	<250

IHQ-4: inmunohistoquímica usando los 4 biomarcadores. CTNE: carcinoma de tipo no especial. GC: ganglio centinela. MT: metástasis. CTT: carga tumoral total.

### 6.1.10b PACIENTES CON GANGLIO CENTINELA POSITIVO Y DISECCIÓN AXILAR POSITIVA

En 6 (22,22%) de las 33 pacientes con DA se hallaron más ganglios axilares positivos (**Tabla 21**). La edad promedio de estas pacientes fue de 49,17 años, con edades comprendidas entre los 40 y 70 años. Los tumores fueron clasificados histológicamente como CTNE. Luminal B fue el subtipo tumoral intrínseco encontrado en este subgrupo. El estadio patológico tumoral posterior al TS fue ypT1, ypT2 y ypT3. Tres pacientes presentaron macroMT en el GC , una con la combinación de macroMT/microMT y dos con microMT. La CTT varió entre 620 copias/ $\mu$ l hasta 2.190.000 copias/ $\mu$ l. En las linfadenectomías se obtuvieron desde 8 hasta 16 ganglios, con una respuesta de Miller y Payne de tipo C (ganglios linfáticos positivos, con evidencia de respuesta parcial a la quimioterapia).

**Tabla 21. Características de las pacientes con ganglios positivos en la disección axilar.**

EDAD (años)	Estadio patológico tumoral	Tipo tumoral IHQ-4	Tipo histológico tumoral	Nº de G C	Nº de G C con MT	CTT (copias/ $\mu$ l)	Nº de G en DA	Nº de G positivos en DA
40	ypT1	Luminal B	CTNE	2	1(microMT)	$7.2 \times 10^2$ (720)	16	2
42	ypT3	Luminal B/HER-2+	CTNE	3	1(macroMT)	$1.153 \times 10^4$ (11.530)	10	3
44	ypT2	Luminal B/HER-2+	CTNE	1	1(macroMT)	$2.190 \times 10^5$ (2.190.000)	8	3
47	ypT2	Luminal B/HER-2+	CTNE	3	2 (macroMT/ microMT)	$2.741 \times 10^4$ (27.410)	15	2
52	ypT2	Luminal B	CTNE	1	1(macroMT)	$3.00 \times 10^4$ (30.000)	11	6
70	ypT2	Luminal B	CTNE	2	1(microMT)	$6.2 \times 10^2$ (620)	12	1

IHQ-4: inmunohistoquímica usando los 4 biomarcadores. CTNE: carcinoma de tipo no especial. CTT: carga tumoral total. G: ganglios. GC: ganglio centinela. DA: disección axilar.

#### 6.1.10c PACIENTES CON GANGLIO CENTINELA POSITIVO Y DISECCIÓN AXILAR NEGATIVA

De las 38 pacientes con GC positivo, a 33 se les realizó la DA. De estas, 27 (77,78%) no presentaron más ganglios afectados en la axila. En general, la edad promedio de este subgrupo fue de 49,41 años, con edades comprendidas entre los 32 y los 67 años. El estadio patológico tumoral posterior al TS (ypT) más frecuente fue ypT1 en 12 (44,44%) pacientes, seguido de ypT0 en 7 (25,93%), ypT2 en 5 (18,52%), y ypT3 en 3 (11,11%). El tipo de respuesta en los ganglios axilares según el sistema de Miller y Payne fue de

tipo A (ganglios linfáticos sin metástasis) y tipo D (ganglios linfáticos con cambios secundarios a respuesta sin infiltración neoplásica residual). Para facilitar la descripción serán agrupadas según el subtipo tumoral IHQ-4 que presentaban:

#### Luminal A

Este grupo estaba constituido por dos pacientes de 45 y 64 años de edad. Ambos tumores fueron clasificados histológicamente como CTE (carcinomas lobulillares infiltrantes). El estadio patológico tumoral posterior al TS fue ypT3. En una de las pacientes se hallaron 3 GC, uno de los cuales presentó microMT con una CTT de 290 copias/ $\mu$ l y se disecaron 16 ganglios de la linfadenectomía. En la otra paciente se hallaron 2 GC, uno con microMT con una CTT de 410 copias/ $\mu$ l y de la linfadenectomía se obtuvieron 26 ganglios (**Tabla 22**). El tipo de respuesta en los ganglios axilares según el sistema de Miller y Payne fue de tipo A.

**Tabla 22. Características de las pacientes con tumores Luminal A con ganglio centinela positivo y ganglios de la disección axilar negativos.**

EDAD (años)	Estadio patológico tumoral	Tipo histológico	Nº de G C	Nº de G C con MT	CTT en el GC (copias/ $\mu$ l)	Nº de G en DA
45	ypT3	CTE	3	1	290	16
64	ypT3	CTE	2	1	410	26

CTE: carcinoma de tipo especial. GC: ganglio centinela. MT: metástasis. CTT: carga tumoral total. G: ganglios. DA: disección axilar.

## Luminal B

Este grupo estuvo constituido por 17 pacientes cuyas edades estaban comprendidas entre 32 y 69 años, con una edad media de 49,41 años. Dieciséis de los tumores fueron clasificados histológicamente como CTNE y un CTE, representado por un carcinoma papilar. El estadio patológico tumoral reasignado posterior al TS fue el siguiente:

- ypT0 en 3 pacientes
- ypT1 en 9 pacientes
- ypT2 en 5 pacientes

Doce de las pacientes mostraron microMT en el GC, tres con macroMT, una presentó la combinación de macroMT/micoMT y otra presentó la combinación de macroMT/CTA. La CTT varió entre 270 copias/ $\mu$ l y 211.000 copias/ $\mu$ l. En las linfadenectomías se obtuvieron desde 9 hasta 29 ganglios (**Tabla 23**). El tipo de respuesta en los ganglios axilares según el sistema de Miller y Payne fue de tipo A en 12 pacientes y de tipo D en 5 de ellas.



**Tabla 23. Características de las pacientes con tumores Luminal B con ganglio centinela positivo y ganglios de la disección axilar negativos.**

EDAD (años)	Estadio patológico tumoral	Tipo histológico	Nº de G C	Nº de G C con MT	CTT (copias/ $\mu$ l)	Nº de G en DA
32	ypT2	CTE	2	1 (macroMT) 1 (CTA)	86.000	14
39	ypT1	CTNE	2	1 (macroMT)	6.100	16
40	ypT1	CTNE	1	MicroMT	2.510	15
42	ypT1	CTNE	3	1 (microMT)	890	13
45	ypT2	CTNE	2	1 (macroMT) 1 (microMT)	5.620	11
46	ypT1	CTNE	3	1 (macroMT)	211.000	9
48	ypT0	CTNE	1	MicroMT	361	9
49	ypT0	CTNE	2	MicroMT	4.400	19
51	ypT1	CTNE	3	MacroMT	156.000	29
53	ypT1	CTNE	1	MicroMT	690	24
56	ypT1	CTNE	1	MicroMT	680	23
56	ypT2	CNTE	1	MicroMT	410	10
61	ypT0	CTNE	1	MicroMT	680	10
63	ypT2	CTNE	1	MicroMT	2.300	23
40	ypT1	CTNE	3	1 (microMT)	960	16
50	ypT1	CTNE	2	2 (microMT)	1.180	17
69	ypT2	CTNE	2	1 (microMT)	270	13

CTE: carcinoma de tipo especial. CTNE: carcinoma de tipo no especial. GC: ganglio centinela. MT: metástasis. CTT: carga tumoral total. G: ganglios. DA: disección axilar.

## HER-2

Este grupo estuvo constituido por cuatro pacientes cuyas edades estaban comprendidas entre 35 y 49 años, con una edad promedio de 43,25 años. Los tumores fueron clasificados histológicamente como CTNE. El estadio patológico tumoral posterior al TS fue ypT0 y ypT1. Las cuatro pacientes mostraron microMT en el GC y la CTT varió entre 270 copias/ $\mu$ l hasta 680 copias/ $\mu$ l. En las linfadenectomías se obtuvieron desde 14 hasta 22 ganglios (**Tabla 24**). El tipo de respuesta en los ganglios axilares según el sistema de Miller y Payne fue de tipo A.

**Tabla 24. Características de las pacientes con tumores HER-2 enriquecido con ganglio centinela positivo y ganglios de la disección axilar negativos.**

EDAD (años)	Estadio patológico tumoral	Tipo histológico	Nº de G C	Nº de G C con MT	CTT en el GC (copias/ $\mu$ l)	Nº de G en DA
35	ypT1	CTNE	2	1 (microMT)	270	15
41	ypT1	CTNE	1	1 (microMT)	530	22
48	ypT0	CTNE	3	2 (microMT)	680	15
49	ypT0	CTNE	3	1 (microMT)	540	14

CTNE: carcinoma de tipo no especial. GC: ganglio centinela. MT: metástasis. CTT: carga tumoral total. G: ganglios. DA: disección axilar.

## Triple negativo

Este grupo estuvo constituido por cuatro pacientes cuyas edades estaban comprendidas 45 y 67 años, con una edad promedio de 53 años. Tres de los tumores fueron clasificados histológicamente como CTNE y un CTE, representado por un carcinoma medular. El estadio patológico tumoral posterior al TS fue ypT0, ypT1 y ypT3. Se hallaron un

máximo de 4 GC y un mínimo de 2. Las metástasis encontradas fueron del tipo de microMT y CTA, con una CTT máxima de 660 copias/μl. En las linfadenectomías se disecaron entre 11 y 28 ganglios (**Tabla 25**). El tipo de respuesta en los ganglios axilares según el sistema de Miller y Payne fue de tipo A y de tipo D.

**Tabla 25. Características de las pacientes con tumores triple negativo (basal-like) con ganglio centinela positivo y ganglios de la disección axilar negativos.**

EDAD (años)	Estadio patológico tumoral	Tipo histológico	Nº de G C	Nº de G C con MT	CTT (copias/μl)	Nº de G en DA
45	ypT3	CTE	4	2 (microMT)	660	21
47	ypT0	CTNE	3	1 (microMT)	320	12
53	ypT1	CTNE	2	1 (CTA)	<250	28
67	ypT0	CTNE	2	1(microMT)	400	11

CTE: carcinoma de tipo especial. CTNE: carcinoma de tipo no especial. GC: ganglio centinela. MT: metástasis. CTT: carga tumoral total. G: ganglios. DA: disección axilar.

#### 6.1.11 SEGUIMIENTO DE LAS PACIENTES

Se realizó el seguimiento de las pacientes a través de la revisión de las historias clínicas.

Una de las pacientes pudo ser observada solo durante un período de 19 meses, esto fue debido a que no se presentó a los controles sucesivos, para su último control se encontraba libre de enfermedad. El máximo período de seguimiento ha sido de 105 meses (7 años y 9 meses), con un período mínimo de 8 meses y con una media de 37 meses.

Hasta la fecha del presente estudio, todas las pacientes se encontraban vivas. Cuatro de ellas tenían antecedentes de neoplasias previas, entre las cuales hallamos adenocarcinoma

de colon, mama y endometrio. Además, dos pacientes sufrieron de cáncer de mama contralateral y otra se encontraba con metástasis.

En aquellas pacientes que cumplían los criterios clínicos que definen al síndrome del cáncer de mama y ovario hereditario, se les realizó la determinación para identificar mutaciones patogénicas en los genes BRCA1/2. Trece de las pacientes cumplían con estos criterios. Estas mujeres tenían edades comprendidas entre los 33 y 53 años. Seis de ellas presentaron tumores TN y siete presentaron tumores Luminal B. A todas las pacientes con mutaciones en el gen BRCA1/2 se les realizó la ooforosalingectomía bilateral profiláctica.

En las pacientes con tumores TN el resultado fue el siguiente:

- Dos pacientes no presentaron mutaciones patogénicas.
- Una presentó mutación en el gen BRCA1.
- Una presentó mutación en el gen BRCA2.
- Una paciente presentó una variante de significado biológico desconocido en el gen BRCA1 y otra paciente presentó una variante de significado biológico desconocido en el gen BRCA2.

En las pacientes con tumores Luminal B se obtuvieron los siguientes resultados:

- Cinco pacientes no presentaron mutaciones patogénicas.
- Una presentó mutación en el gen BRCA2.
- Una presentó una variante de significado biológico desconocido en el gen BRCA2.

Cabe destacar que, las cinco pacientes a las cuales no se les realizó la DA a pesar de tener el GC positivo se encontraban libres de enfermedad hasta la fecha.



## **7. DISCUSIÓN**





## 7. DISCUSIÓN

El cáncer de mama es el tumor más frecuente en las mujeres occidentales, con una incidencia en aumento a un ritmo del 2% anual con tendencia a la estabilización, observándose un continuo descenso en la mortalidad y un aumento en la sobrevida libre de la enfermedad a los 5 años del diagnóstico. Esta disminución de la mortalidad es debida principalmente al diagnóstico precoz y los avances en el tratamiento quirúrgico y oncológico (1,2,6,172).

En nuestra serie analizamos 92 pacientes con cáncer de mama invasivo y cN0 al momento del diagnóstico, a las cuales se les administró QNA. El promedio de edad fue de 52,45 años, con un 45,65% de pacientes menores de 50 años, similar a lo observado en otras publicaciones (171,173,174). El tipo histológico predominante en este estudio fue el CTNE (91,30%) en concordancia con la mayoría de los estudios de cáncer de mama a nivel mundial (2) y el 60,87% presentaba un alto grado histológico (grado 3).

En las últimas décadas se ha reconocido y estudiado la heterogeneidad de los carcinomas de mama. Las observaciones realizadas sobre el comportamiento variable de esta neoplasia han apoyado estas teorías. Un estudio histórico realizado por Perou y cols., ilustró que la heterogeneidad del carcinoma de mama se reflejaba en la composición molecular de estos tumores. Mediante el uso de análisis de la expresión génica del carcinoma de mama, se han podido identificar varios subtipos moleculares (SM) de esta neoplasia (94), demostrando que son grupos heterogéneos con resistencia y sensibilidad a las terapias específicas, invasividad o potencial metastático diferentes. Utilizando agrupamiento jerárquico para analizar estos tumores, se identificaron 2 grupos principales basados en el estado de los RE, tumores con estrógenos positivos y tumores con

estrógenos negativos (95). Los tumores positivos a estrógenos correspondieron a los tumores del subtipo Luminal (A y B), mientras que en el grupo de estrógenos negativos estaban incluidos los HER-2 enriquecido y los de tipo células basales (TN).

Los tumores Luminal A generalmente son bien diferenciados, con mayor probabilidad de estar en un estadio bajo (T1) al momento del diagnóstico, con una alta expresión de RP, bajo índice de proliferación y expresión negativa de HER-2. La SLE a los 10 años de las pacientes con este SM es aproximadamente del 80% y muestran una menor tasa de recaída a los 5 años, 9% a los 5 años (97).

En comparación, los tumores Luminal B tienden a tener una expresión más baja de RE, con tasas de proliferación más elevadas y pueden expresar la oncoproteína HER-2, al menos en un subconjunto de casos. Por lo tanto, este tipo tumoral parece ser un grupo más heterogéneo. Morfológicamente, tienden a ser de un grado más alto y tienen un peor pronóstico con mayores posibilidades de recaída (175,176).

Los tumores HER-2 enriquecidos generalmente se caracterizan por presentar un alto grado histológico, alto índice de proliferación y también exhiben negatividad inmunohistoquímica para RH y positividad de la oncoproteína Her-2/neu. Clínicamente se comportan de una manera agresiva, sin embargo muestran una buena respuesta a los tratamientos anti-HER-2, lo que ha tenido un impacto positivo en la supervivencia (98), con mejores tasas de RPc en comparación con los subtipos luminales (177). Las recidivas locales son más comúnmente observadas en estos tumores, aproximándose en un 8% en comparación con 1,8% en los tumores Luminal A, durante un período de 5 años después de la cirugía conservadora (178).

La identificación de HER-2 como oncogén en el cáncer de mama facilitó el desarrollo de terapias dirigidas contra esta oncoproteína. Trastuzumab, un anticuerpo monoclonal humanizado que se une al dominio extracelular de HER-2, induce respuestas clínicas como agente único, prolonga la supervivencia en combinación con quimioterapia y disminuye las tasas de recurrencia mejorando la supervivencia en el contexto adyuvante cuando se administra a mujeres cuyos cánceres sobreexpresan HER-2 (179). Sin embargo, no todas las mujeres con cáncer de mama HER2-positivo responden a estos agentes, estudios dirigidos a elucidar los mecanismos de resistencia a esta terapia están en marcha para proporcionar más información sobre la fisiología patológica del cáncer de mama HER2-positivo (180).

El subtipo TN morfológicamente se presenta con un alto grado histológico, alta tasa mitótica, necrosis y inmunohistoquímicamente se caracteriza por no expresar RH ni oncoproteína Her-2/neu (99). Clínicamente, estos tumores se presentan a una edad más temprana, son más comunes en la población afroamericana (181), se presentan con un mayor estadio clínico y actualmente no se cuenta con una terapia específica como la que hay para los tumores RH positivos y los cánceres de mama con expresión de HER-2 (182). Por lo tanto, tienen un mal pronóstico en comparación con los tumores luminales, con una supervivencia sin recaídas significativamente más corta y con una alta proporción de recaídas a los 3 años (183).

Aunque el estándar de oro para la identificación de los SM sigue siendo el análisis de la expresión génica, en la práctica clínica diaria se ha adaptado el uso de marcadores inmunohistoquímicos para identificar estos subtipos de manera rutinaria (101). El SM más observado en nuestro estudio mediante el uso del sistema IHQ-4 fue el Luminal B

(61,96%), seguido del TN (19,56%), HER-2 enriquecido (15,22%) y el Luminal A (3,26%). Ensayos de expresión génica han demostrado que los tumores Luminal A pueden representar aproximadamente el 60% de todos los cánceres mamarios, los Luminal B el 20%, los HER-2 enriquecidos el 15-20% y los TN el 10-15% de estos tumores (184,185). En nuestro estudio, Luminal A fue el subtipo tumoral que menor representación tuvo en la muestra analizada, con una concordancia para los tumores HER-2 y una proporción algo mayor de TN en relación a lo publicado en la literatura. Nuestros hallazgos pueden deberse a que el punto de corte escogido para el Ki67 por otros autores para discriminar entre Luminal A y Luminal B haya sido mayor que el nuestro (20% en lugar del 14%), o simplemente a las características de la muestra estudiada ya que son pacientes con tumores mayores de 2 cm que han recibido QNA.

La QNA se ha utilizado ampliamente para tratar el cáncer de mama localmente avanzado e inflamatorio, además para tratar de reducir el tamaño tumoral en los cánceres operables con el objetivo de mejorar el control locoregional de la enfermedad y aumentar las tasas de cirugías conservadoras (186). Otra ventaja que aporta el uso de QNA, es la identificación temprana de tumores que no responden a la terapia específica, dando la oportunidad de cambiar a un régimen alternativo (187). La respuesta de un tumor al TS se mide mediante la RPc, la cual se define como la ausencia de tumor invasivo residual en la mama y en los ganglios axilares. La RPc se relaciona con un incremento en la supervivencia a largo plazo (188), por lo que mejorar las tasas de RPc se ha convertido en el objetivo de los tratamientos neoadyuvantes con la finalidad de mejorar la supervivencia del paciente.

Nuestros resultados evidenciaron que 60 (65,22%) tumores presentaron una RPP, mientras que 28 (30,43%) de ellos mostraron una RPc y en 4 (4,35%) no se observó respuesta al TS. Si analizamos la RPc en función del SM, y conociendo que estos presentan un comportamiento y una respuesta a la terapia diferentes, tenemos que los tumores HER-2 enriquecido presentaron la mejor tasa de RPc (78,57%), seguidos de los TN (44,44%), Luminal B (14,04%) y uno de los 3 tumores Luminal A.

Se ha informado que los tumores que presentan mejor respuesta al TS son los HER-2 enriquecidos y los TN, en concordancia con nuestros hallazgos. En general, las tasas de RPc de los HER-2 enriquecidos pueden ser hasta del 70%. Los tumores TN tienen RPc variables, que pueden ir desde un 20% hasta un 83%, según las series y la terapia utilizada. Los grupos Luminales presentan respuestas de 0-23%, siendo los Luminal B los que tienen mejores tasas de respuesta (16%) en comparación con los Luminal A (7,5%) (189–191). De manera que consideramos que los tumores TN y sobre todo los HER-2 enriquecido son los que mejor se van a comportar tras la QNA en caso de existir afectación clínica axilar previa y que las pacientes con estos subtipos tumorales podrían ser candidatas a abordajes quirúrgicos menos invasivos después de la QNA en comparación con los otros dos SM.

De las 28 (30,43%) pacientes que mostraron una RPc en la mama, 11 de ellas presentaban tumores HER-2 enriquecido, 8 con tumores TN, 8 con tumores Luminal B y una con un tumor Luminal A. De estas 28 mujeres, 8 tuvieron el GC positivo (7 microMT y 1 CTA), y ninguna presentó más ganglios axilares afectados en la DA. Recientes publicaciones demuestran que es posible estimar de manera confiable la probabilidad de presentar metástasis ganglionares en pacientes con cánceres que sobreexpresan HER-2 y del tipo

TN en etapa temprana y con una RPc a la QNA, ya que el riesgo de metástasis ganglionares en este grupo particular de pacientes es extremadamente bajo (192).

Las evaluaciones clínicas y radiológicas de la respuesta a la QNA se basan en el cambio en el tamaño del tumor, y la correlación con la respuesta patológica es a menudo inexacta. Para evaluar el tumor residual, se debe realizar un análisis macroscópico y microscópico en las piezas quirúrgicas de la mama. Kurosumi y cols. informaron de que los métodos de evaluación patológica puede modificar significativamente las tasas de RPc (193). Sin embargo, los métodos de evaluación histopatológica generalmente no se informan en la literatura. Se sabe, por ejemplo, que una de las dificultades surge del hecho de que la respuesta a la terapia puede ser concéntrica (núcleo tumoral residual rodeado de fibrosis e inflamación) o dispersa (células tumorales aisladas y dispersas en un estroma fibroso) (194). Por lo tanto, los métodos de corte (cribado completo del tumor o sólo unas pocas secciones de un sitio representativo), el grosor de las secciones y la calidad del muestreo pueden dar lugar a diferencias obvias en las respuestas patológicas.

Un problema actual, es la falta de estándares para evaluar la RPc. Varios estudios han identificado una serie de cambios histopatológicos en el tumor y en el tejido mamario adyacente (195). Existen cambios celulares en relación al núcleo y al citoplasma y cambios estromales. Los cambios nucleares pueden consistir en la presencia de nucleolos prominentes, membrana nuclear irregular, picnosis, cariorrexis, y el citoplasma puede encontrarse amplio y vacuolado. En el estroma es característico observar cambios cicatriciales con infiltrado inflamatorio de linfocitos e histiocitos, además de proliferación vascular. Estos cambios no son específicos para ningún agente en particular y pueden ser variables entre los tipos tumorales y su respuesta al TS (196).

Se han propuesto diversos sistemas de clasificación para definir la respuesta patológica en la mama sola o en conjunto con los ganglios linfáticos axilares. Entre estos sistemas se encuentran el de GEPARDO, Sataloff, Chevallier, MD Anderson, Miller y Payne, entre otros (196). En nuestro centro el sistema de clasificación histológica de respuesta al TS utilizado es el de Miller y Payne, en el cual la definición de RPc se basa en la ausencia de tumor invasivo, incluso si el carcinoma ductal in situ está presente (117). Este sistema valora la respuesta en la mama en 5 grados y la respuesta ganglionar en 4 tipos (A, B, C y D).

Nuestros resultados evidenciaron que en 30,43% de las pacientes los tumores mostraron una respuesta grado 5, lo que se traduce como una RPc en la mama, y se correlaciona con el estadio patológico tumoral posterior al TS (ypT), donde el 30,43% de las pacientes presentaba un estadio ypT0. Si tomamos en cuenta que el 22,83% de la muestra analizada presento una respuesta de Miller y Payne grado 4, significaría que el 53% de las pacientes presentaron una buena respuesta al TS.

En general, se cree que los pacientes que logran una RPc tienen una mejor supervivencia en comparación con los que no lo hacen (188,197), por ello la RPc es un factor pronóstico establecido. En el trabajo publicado por Symmans, evidencian que las pacientes con presencia de restos mínimos de enfermedad tienen el mismo resultado en la supervivencia a los 5 años que las pacientes con RPc, por lo tanto, los autores incluyeron la presencia de enfermedad mínima en su definición de RPc (198). Por esta razón, cabe preguntarnos cual es el valor predictivo de la RPc para la supervivencia del paciente en cada SM del cáncer de mama. En el trabajo publicado por Von Minckwitz y colaboradores, donde analizaron una gran serie constituida por 6.377 casos con un seguimiento promedio de

46,3 meses, evidenciaron que en los tumores Luminal B/HER2- , la obtención de una RPc se asoció con una mejora en la SLE, pero no en los Luminales A, sin llegar a observar ningún impacto en la sobrevida en ninguno de los dos grupos (199). Encontraron que la RPc es un buen marcador de SLE y sobrevida para tumores HER-2 puros, pero no para tumores luminales B/HER-2 +, independientemente de la terapia con trastuzumab. Se ha confirmado que en los pacientes con tumores TN que logran una RPc, el riesgo de recurrencia y mortalidad disminuye significativamente (200), y presentan una sobrevida comparable a los pacientes con tumores no TN. Alternativamente, en el caso de una RPP el grupo TN presenta una sobrevida significativamente peor que los otros SM, con un riesgo 6 veces mayor de recaída y un riesgo de muerte 12 veces mayor en comparación con los pacientes con RPc (201).

El estado de los ganglios linfáticos axilares continúa siendo el factor pronóstico más importante para los pacientes con cáncer de mama en estadio temprano o inicial. Los factores que pueden predecir las metástasis ganglionares incluyen el tamaño del tumor, la invasión angiolímfática, el grado tumoral y la edad del paciente (202). Sin embargo, ninguna combinación de estos factores predictores del estado de los ganglios axilares ha reemplazado la resección quirúrgica y el examen de los ganglios linfáticos.

La BSGC se admite actualmente como la técnica estándar en el tratamiento quirúrgico del cáncer de mama con el objetivo de evitar vaciamientos axilares innecesarios a la hora de estadificar la enfermedad, disminuyendo la morbilidad que este procedimiento conlleva (203).

Sin embargo, continúa siendo un punto de controversia si la BSGC es útil en pacientes que han recibido quimioterapia previa. Se ha sugerido que el TS primario puede modificar



los patrones de drenaje linfático dentro de la axila (204,205) afectando la detección del GC. Del mismo modo, también existen publicaciones que apoyan el uso del GC posterior a la QNA (206–208), cuyos hallazgos indican que se puede detectar con precisión los GC en este tipo de pacientes pudiendo predecir con exactitud el estado del resto de la axila.

Diversos estudios han informado tasas de identificación del GC que varían entre de 71 hasta el 100%, cuando la BSGC se realizó después de QNA (160,206,209–212). En el presente estudio, la tasa de identificación del GC fue del 100%, lo que indica que la identificación del GC en las pacientes con QNA es similar a la de los pacientes que no han recibido TS previo.

La principal ventaja de la evaluación intraoperatoria del GC en las pacientes con cáncer de mama, es la posibilidad de realizar la DA en el mismo acto quirúrgico. Sin embargo, en los últimos años ha surgido una creciente tendencia a evitar la realización de linfadenectomías axilares en pacientes que presenten hasta dos GC metastásicos. Esto se debe a recientes estudios que demuestran que existe mujeres con tumores T1-T2, candidatas a cirugía conservadora y radioterapia adyuvante que no se benefician de la DA a pesar de tener el GC positivo, ya que no evidenciaron diferencias significativas en cuanto a la recidiva locoregional, la SLE y la SG entre las pacientes estudiadas con y sin DA. (167,168,214).

Desde la publicación del ensayo ACOSOG Z0011 y del IBCSG 23-01, ha cambiado el paradigma del tratamiento quirúrgico en el cáncer de mama. Los hallazgos y recomendaciones del Z0011 han provocado una gran controversia. Se han discutido y revisado ampliamente, se han actualizado y siguen siendo defendibles en la práctica

clínica actual (167), ya que queda claro que no todas las pacientes con GC positivo requieren de una DA si existe un riesgo mínimo de recurrencia axilar o compromiso de la SG. El uso de la evaluación intraoperatoria de los GC en el contexto preadyuvante ha disminuido, pero en el contexto neoadyuvante y según las guías NCCN, el procedimiento estándar a seguir después de un resultado positivo en el GC en pacientes tratadas con QNA es la DA complementaria. Por lo tanto, la evaluación intraoperatoria del GC en estas pacientes sigue siendo útil.

La utilización de métodos histológicos convencionales para el análisis del GC como lo son el corte por congelación o la citología de impresión, presentan TFN hasta del 37% (215,216). La gran ventaja de la implementación de un método molecular para realizar dicho análisis, en nuestro estudio el método de OSNA, es conseguir resultados definitivos, altamente sensibles y específicos en el tiempo intraoperatorio, evitando así la realización de segundas cirugías para completar la DA a causa de resultados intraoperatorios falsos negativos (156,217).

En nuestro estudio, todos los GC fueron analizados por OSNA. En 38 (41,30%) pacientes el GC fue positivo, presentando diferentes tipos de volumen tumoral, 5 pacientes con CTA, 24 con microMT y 9 con macroMT. En otros estudios similares al nuestro, la tasa de GC positivo fue de un 21,1% hasta un 42% (171,174,213,218). Estos hallazgos pueden deberse a una valoración inadecuada de la axila al momento del diagnóstico, y representar la presencia de enfermedad ganglionar pretratamiento que no respondió a la terapia o remanentes de enfermedad ganglionar que ha respondido al TS.

En el trabajo publicado por Peg y cols., establecen que 15.000 copias de ARNm de CK19 puede ser un punto de corte adecuado como predictor de no tener más ganglios axilares

afectos, ya que evidenciaron que este punto de corte presentaba un valor predictivo negativo de 85.5%, un valor predictivo positivo de 41.1%, una sensibilidad de 76.7% y una especificidad de 55.2%, para evitar la realización de DA en aquellas pacientes que presenten CTT por debajo de este valor (173). Alternativamente, existen otras publicaciones donde sugieren valores de CTT menores como puntos de corte más adecuados para omitir con seguridad la DA. Estos valores pueden ir desde 1.400 hasta 10.000 copias de ARNm de CK19, también toman en cuenta otros factores como el tamaño del tumor, el número de GC afectados, la presencia de infiltración linfovascular, estado del HER-2 y el porcentaje de Ki67, como elementos a tener en cuenta a la hora de decidir el manejo de la axila (219–221). Sin embargo, estos son trabajos realizados con pacientes que no habían recibido QNA.

En el estudio publicado por Rubio y cols., observaron que las pacientes con microMT en el GC después de QNA, presentaron tasas de afectación de ganglios no centinelas entre un 12% y un 50% y que el GC fue el único ganglio positivo en alrededor del 50% de los casos (222). En el presente estudio 6 (18,18%) de las pacientes de las 33 con GC positivo a las cuales se les realizó la DA, presentaron más ganglios afectados en la axila, lo cual significa que en las 27 (81,82%) restantes el único ganglio afecto era el centinela.

Es importante destacar que estas 6 pacientes con GC positivo y DA positiva, presentaban tumores del subtipo Luminal B (3 de estos eran Luminal B/HER-2+), con una RPP al TS en la mama. Cuatro de ellas con macroMT en el GC, 2 con microMT, y una CTT que estuvo comprendida entre 620 copias/  $\mu\text{l}$  ( $6.2 \times 10^2$  copias /  $\mu\text{l}$ ) y 2.190.00 copias /  $\mu\text{l}$  ( $2.190 \times 10^3$  copias /  $\mu\text{l}$ ). De las 27 pacientes cuyo único ganglio afecto fue el centinela,

22 presentaron microMT y 5 presentaron macroMT, además 7 de las pacientes con microMT mostraron una RPc en la mama.

Nuestros hallazgos sugieren que la DA puede no ser necesaria en pacientes que han recibido QNA, las cuales presentan un bajo volumen tumoral en el GC y una RPc en la mama. En nuestros resultados evidenciamos que de las 28 pacientes que mostraron una RPc en la mama, 20 tuvieron el GC negativo y 8 con GC positivo con una baja carga tumoral (7 con microMT y una con CTA), siendo el GC el único ganglio afecto.

Estudios previos han demostrado, en el contexto preadyuvante, que la CTT es útil para evitar procedimientos quirúrgicos innecesarios, ya que han evidenciado que el volumen tumoral de las metástasis en el GC es un factor predictivo independiente para determinar la probabilidad de hallar más ganglios axilares afectados. Por lo tanto, un bajo volumen tumoral no siempre conllevará a la realización de una DA aun más si el tratamiento se completa con radioterapia y TS adyuvante. Sin embargo, en el escenario de la neoadyuvancia, la relevancia de la carga tumoral en el GC no está bien establecido, por lo que muchos consideran que cualquier volumen tumoral que afecte al GC debe ser considerado como positivo y por lo tanto es mandatorio realizar la DA (223). Quizás, si tomamos en cuenta la CTT que afecta al GC, junto con el SM y la capacidad de este para obtener una RPc, se pudiera establecer con mayor precisión la probabilidad de afectación del resto de los ganglios axilares, evitando así la realización de un procedimiento que no aportaría beneficios a la paciente.

Es importante tener en cuenta que la presencia de enfermedad residual en los ganglios axilares después de la QNA se ha establecido como factor pronóstico para la SLE, y que la enfermedad axilar residual puede comportarse de manera diferente en el escenario

neoadyuvante en comparación con el adyuvante. Se sabe que los pacientes con ganglios negativos o con micrometástasis que no son tratados con QNA tienen tasas de supervivencia idénticas, mientras que la tasa de supervivencia de los pacientes con microMT en los ganglios linfáticos después de la quimioterapia es significativamente peor (224).

Aunque el objetivo principal de este trabajo era analizar los ganglios axilares en pacientes sometidas a QNA y axila clínicamente negativa, nos parece útil hacer una breve referencia a la causa hereditaria más común del cáncer de mama, la mutación de la línea germinal del gen BRCA1 y BRCA2. Estos genes participan en el mantenimiento de la integridad del genoma actuando en la reparación del daño del ADN y la regulación del ciclo celular (12). Los portadores de estas mutaciones tienen un alto riesgo de padecer cáncer de mama y ovario en rangos que varían de 47% a 66% y de 40% a 57%, respectivamente. Además, también tienen un riesgo incrementado de sufrir neoplasias en otros órganos como páncreas, aparato gastrointestinal y melanoma (225).

En nuestros resultados evidenciamos que trece de las pacientes analizadas cumplían los criterios clínicos que definen al síndrome del cáncer de mama y ovario hereditario, seis de ellas con tumores TN y siete con tumores Luminal B. Por esta razón, se les realizó la determinación para identificar mutaciones patogénicas en los genes BRCA1/2, evidenciándose que solo tres de ellas mostraron alteración en el gen BRCA1/2, y otras tres con variantes genéticas de significado biológico desconocido en estos genes. Esto representó que el 3% de las pacientes analizadas en nuestra muestra padecían cánceres hereditarios.

Según diversas publicaciones, más del 80% de los cánceres de mama en mujeres con mutaciones en la línea germinal BRCA1 son RH y HER-2 negativos (TN) (226). Los cánceres asociados a BRCA1 son por lo general tumores de alto grado y de fenotipo molecular TN, en comparación los tumores asociados a BRCA2 parecen ser más similares a los tumores esporádicos, exhibiendo un fenotipo luminal con sobreexpresión de RH (227). Nosotros observamos que dos de las pacientes con tumores TN presentaban mutaciones en el gen BRCA1/2 y una paciente con un tumor Luminal B era portadora de mutación en BRCA2.

La identificación de estos genes y su función tiene importantes implicaciones para la prevención, el diagnóstico y la terapia del cáncer de mama en las portadoras. Una vez diagnosticadas con cáncer de mama, estas mujeres también están en alto riesgo de desarrollar cáncer en la mama contralateral. El manejo clínico de las portadoras de mutaciones BRCA1/2 está dirigido principalmente a prevenir tanto el cáncer de ovario como el cáncer de mama (228). Se ha recomendado que las mujeres con estas mutaciones se beneficien de cirugías reductoras de riesgo como la mastectomía profiláctica (MP) y la ooforosalingectomía bilateral (OSB) (229). La MP, aunque sea un procedimiento invasivo con consecuencias cosméticas, es la estrategia más eficaz disponible en la actualidad. Los estudios han demostrado que los resultados de la MP presentan hasta un 97% de reducción del riesgo de cáncer de mama contralateral, además de conferir una ventaja en la supervivencia (230,231). La OSB, además de reducir el riesgo de cáncer de ovario en más del 80%, reduce el riesgo de cáncer de mama en un 50% (231).

Una vez que se diagnostica el cáncer en las pacientes portadoras de mutaciones en BRCA1/2, la terapia está dictada por los factores pronósticos y predictivos estándares y no se indican regímenes específicos sobre la base de la predisposición genética en este momento, así como tampoco existe una terapia específica contra este tipo de tumores. La participación de las proteínas BRCA en la reparación del ADN por recombinación homóloga sugiere que estos tumores pueden ser particularmente sensibles a la quimioterapia con las sales de platino. Se ha observado respuesta significativa a la QNA con cisplatino en algunas portadoras de mutación BRCA1/2 (232). Otros estudios sugieren que los cánceres de mama en las portadoras de mutación BRCA1 generalmente son más quimiosensibles a la terapia con antraciclina-taxanos comparados con tumores esporádicos (233).





## **8. CONCLUSIONES**



## **8. CONCLUSIONES**

- 1) El método de OSNA es una técnica estandarizada, precisa, reproducible y automatizada que permite un resultado definitivo en tiempo intraoperatorio.
- 2) Las tasas de detección del GC posterior a la QNA pueden llegar a ser similares a las tasas observadas en pacientes que no han recibido TS.
- 3) La BSGC posterior a la QNA es un procedimiento factible y preciso para estadificar la axila en paciente con ganglios axilares clínicamente negativos al inicio.
- 4) En nuestro estudio, los tumores que presentaron mejores tasas de respuesta al TS fueron los subtipos HER-2 enriquecido y los TN.
- 5) En nuestra serie, las pacientes con GC positivo con microMT y una RPc en la mama no presentaron más ganglios afectados en la DA.
- 6) La RPc en la mama puede ser una guía pero no es un indicador específico de la respuesta patológica en la axila.
- 7) No se obtuvo un valor concluyente de la CTT que permitiera establecer un punto de corte para predecir la probabilidad de afectación de ganglios axilares no centinelas.
- 8) La evaluación patológica de las piezas quirúrgicas es un paso crítico para evaluar la respuesta a las terapias administradas.



## **9. ÍNDICE DE TABLAS**



## **9. ÍNDICE DE TABLAS**

**Tabla 1.** Clasificación de Sistema de Informes y Registro de Datos de Imágenes de la Mama BI-RADS.

**Tabla 2.** Tipos histológicos del cáncer de mama según la última edición de la clasificación de tumores de la Organización Mundial de la Salud (OMS) 4ta edición.

**Tabla 3.** Método semicuantitativo para determinar el grado histológico en los tumores de mama.

**Tabla 4.** Puntuación según la cuenta mitótica.

**Tabla 5.** Clasificación y estadificación patológica del cáncer de mama según el American Joint Committee (AJCC, 8º edición).

**Tabla 6.** Clasificación del cáncer de mama en subtipos intrínsecos usando IHQ.

**Tabla 7.** Clasificación del cáncer de mama en subtipos intrínsecos usando IHQ.

**Tabla 8.** Sistema de valoración de la respuesta patológica del tumor posterior a la neoadyuvancia de Miller y Payne.

**Tabla 9.** Sistema de valoración de la respuesta patológica ganglionar posterior a la neoadyuvancia de Miller y Payne.

**Tabla 10.** Algoritmo del tratamiento neoadyuvante para pacientes con cáncer de mama.

**Tabla 11.** Características de las pacientes y del tipo tumoral.

**Tabla 12.** Tipos de respuesta patológica según los subtipos intrínsecos IHQ-4.

**Tabla 13.** Grado de la repuesta patológica del tumor al tratamiento sistémico usando el sistema de Miller y Payne y según los subtipos intrínsecos IHQ-4.

**Tabla 14.** Estadio patológico tumoral posterior al tratamiento sistémico (ypT).

**Tabla 15.** Estadio patológico tumoral posterior al tratamiento sistémico (ypT) según los subtipos intrínsecos IHQ-4.

**Tabla 16.** Distribución del tipo de metástasis en los ganglios centinelas.

**Tabla 17.** Características clínico-patológicas de las pacientes con ganglio centinela positivo.

**Tabla 18.** Distribución del tipo de metástasis según el subtipo tumoral intrínseco IHQ-4.

**Tabla 19.** Características clínico-patológicas de las pacientes con ganglio centinela negativo.

**Tabla 20.** Características de las pacientes con ganglio centinela positivo sin disección axilar.

**Tabla 21.** Características de las pacientes con ganglios positivos en la disección axilar.

**Tabla 22.** Características de las pacientes con tumores Luminal A con ganglio centinela positivo y ganglios de la disección axilar negativos.

**Tabla 23.** Características de las pacientes con tumores Luminal B con ganglio centinela positivo y ganglios de la disección axilar negativos.

**Tabla 24.** Características de las pacientes con tumores HER-2 enriquecido con ganglio centinela positivo y ganglios de la disección axilar negativos.

**Tabla 25.** Características de las pacientes con tumores triple negativo (basal-like) con ganglio centinela positivo y ganglios de la disección axilar negativos.



## **10. ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICAS**



## **10. ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICAS**

**Figura 1.** Diez principales tipos de cáncer y muertes por sexo en Estados Unidos para el 2018.

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

**Figura 3.** Flujo de trabajo para la preparación de la muestra.

**Gráfica 1.** Distribución de los tumores de acuerdo al tipo histológico (N=92).

**Gráfica 2.** Distribución de los tumores de acuerdo al grado histológico (N=92).

**Gráfica 3.** Subtipo tumoral intrínseco según el sistema IHQ-4 (N=92).

**Gráfica 4.** Distribución de los tumores de acuerdo a la clasificación histológica y el subtipo tumoral intrínseco (N=92).

**Gráfica 5.** Respuesta patológica tumoral al tratamiento sistémico (N=92).

**Gráfica 6.** Respuesta patológica tumoral al tratamiento sistémico según los subtipos intrínsecos IHQ-4 (N=92).

**Gráfica 7.** Estadio patológico tumoral posterior al tratamiento sistémico (ypT) (N=92).

**Gráfica 8.** Estadio patológico tumoral posterior al tratamiento sistémico (ypT) según los subtipos intrínsecos IHQ-4 (N=92).

**Gráfica 9.** Número promedio de ganglios linfáticos centinelas obtenidos por paciente (N=92).

**Gráfica 10.** Resultados del ganglio centinela por el método de OSNA (N=92).

**Gráfica 11.** Distribución del tipo de metástasis en los ganglios centinelas (N=92).

**Gráfica 12.** Subtipo tumoral intrínseco IHQ-4 en las pacientes con ganglio centinela positivo (N=38).

**Gráfica 13.** Subtipo tumoral intrínseco IHQ-4 en las pacientes con ganglio centinela negativo (N=54).



## **11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



## **11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J cancer*. 2015 Mar 1;136(5):E359-86.
2. Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, Tan PH van de VM. WHO Classification of Tumours of the Breast. 4th Editio. Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, Tan PH van de VM, editor. WHO/IARC; 2012.
3. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*. 2017;67:7–30.
4. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JWW, Comber H, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer*. 2013 Apr;49(6):1374–403.
5. Sanchez MJ, Payer T, De Angelis R, Larranaga N, Capocaccia R, Martinez C. Cancer incidence and mortality in Spain: estimates and projections for the period 1981-2012. *Ann Oncol*. 2010 May 1;21(Supplement 3):iii30-iii36.
6. Galceran Ja, Gumà J, Carulla M, Ameijide A, Saladié F, Borràs Col J, et al. El càncer a Tàrragona 2013. *Dadas i Xifres*. 2013.
7. Lee E, Ma H, McKean-Cowdin R, Van Den Berg D, Bernstein L, Henderson BE, et al. Effect of Reproductive Factors and Oral Contraceptives on Breast Cancer Risk in BRCA1/2 Mutation Carriers and Noncarriers: Results from a Population-Based Study. *Cancer*

- Epidemiol Biomarkers Prev. 2008 Nov 1;17(11):3170–8.
8. Daly MB, Axilbund JE, Buys S, Crawford B, Farrell CD, Friedman S, et al. Genetic/familial high-risk assessment: breast and ovarian. *J Natl Compr Canc Netw*. 2010 May;8(5):562–94.
  9. Foulkes WD. Inherited Susceptibility to Common Cancers. *N Engl J Med*. 2008 Nov 13;359(20):2143–53.
  10. Ford D, Easton DF, Peto J. Estimates of the gene frequency of *BRCA1* and its contribution to breast and ovarian cancer incidence. *Am J Hum Genet*. 1995 Dec;57(6):1457–62.
  11. Easton DF. How many more breast cancer predisposition genes are there? *Breast Cancer Res*. 1999;1(1):14–7.
  12. Foulkes WD, Shuen AY. In Brief: *BRCA1* and *BRCA2*. *J Pathol*. 2013 Aug;230(4):347–9.
  13. Streff H, Profato J, Ye Y, Nebgen D, Peterson SK, Singletary C, et al. Cancer Incidence in First- and Second-Degree Relatives of *BRCA1* and *BRCA2* Mutation Carriers. *Oncologist*. 2016 Jul;21(7):869–74.
  14. Campeau PM, Foulkes WD, Tischkowitz MD. Hereditary breast cancer: new genetic developments, new therapeutic avenues. *Hum Genet*. 2008 Aug 25;124(1):31–42.
  15. Malkin D, Li FP, Strong LC, Fraumeni JF, Nelson CE, Kim DH, et al. Germ line *p53* mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. *Science*. 1990 Nov 30;250(4985):1233–8.



16. Hartmann A, Blaszyk H, Kovach JS, Sommer SS. The molecular epidemiology of p53 gene mutations in human breast cancer. *Trends Genet.* 1997;13(1):27–33.
17. Mai PL, Malkin D, Garber JE, Schiffman JD, Weitzel JN, Strong LC, et al. Li-Fraumeni syndrome: report of a clinical research workshop and creation of a research consortium. *Cancer Genet.* 2012 Oct;205(10):479–87.
18. Malkin D. Li-Fraumeni Syndrome. *Genes Cancer.* 2011 Apr 1;2(4):475–84.
19. Tsuda H, Sakamaki C, Tsugane S, Fukutomi T, Hirohashi S. A prospective study of the significance of gene and chromosome alterations as prognostic indicators of breast cancer patients with lymph node metastases. *Breast Cancer Res Treat.* 1998 Mar;48(1):21–32.
20. Dobes P, Podhorec J, Coufal O, Jureckova A, Petrakova K, Vojtesek B, et al. Influence of mutation type on prognostic and predictive values of TP53 status in primary breast cancer patients. *Oncol Rep.* 2014 Jul 21;32(4):1695–702.
21. Orloff MS, Eng C. Genetic and phenotypic heterogeneity in the PTEN hamartoma tumour syndrome. *Oncogene.* 2008 Sep;27(41):5387–97.
22. Hobert JA, Eng C. PTEN hamartoma tumor syndrome: An overview. *Genet Med.* 2009 Oct;11(10):687–94.
23. Liaw D, Marsh DJ, Li J, Dahia PL, Wang SI, Zheng Z, et al.

- Germline mutations of the PTEN gene in Cowden disease, an inherited breast and thyroid cancer syndrome. *Nat Genet.* 1997 May;16(1):64–7.
24. Bose S, Crane A, Hibshoosh H, Mansukhani M, Sandweis L, Parsons R. Reduced expression of PTEN correlates with breast cancer progression. *Hum Pathol.* 2002;33(4):405–9.
  25. Swift M, Morrell D, Massey RB, Chase CL. Incidence of cancer in 161 families affected by ataxia-telangiectasia. *N Engl J Med.* 1991;325(26):1831–6.
  26. Shiloh Y, Ziv Y. The ATM protein kinase: regulating the cellular response to genotoxic stress, and more. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2013 Apr;14(4):197–210.
  27. Byrd PJ, Srinivasan V, Last JJ, Smith A, Biggs P, Carney EF, et al. Severe reaction to radiotherapy for breast cancer as the presenting feature of ataxia telangiectasia. *Br J Cancer.* 2012;106(2):262–8.
  28. Mao JH, Wu D, DelRosario R, Castellanos A, Balmain A, Perez-Losada J. Atm heterozygosity does not increase tumor susceptibility to ionizing radiation alone or in a p53 heterozygous background. *Oncogene.* 2008 Nov;27(51):6596–600.
  29. Hasmats J, Kupersmidt I, Rodríguez-Antona C, Su QJ, Khan MS, Jara C, et al. Identification of candidate SNPs for drug induced toxicity from differentially expressed genes in associated tissues. *Gene.* 2012 Sep 10;506(1):62–8.
  30. Jansen M, Ten Klooster JP, Offerhaus GJ, Clevers H. LKB1 and

- AMPK family signaling: the intimate link between cell polarity and energy metabolism. *Physiol Rev.* 2009 Jul;89(3):777–98.
31. Hemminki A. The molecular basis and clinical aspects of Peutz-Jeghers syndrome. *Cell Mol Life Sci C.* 1999 May;55(5):735–50.
  32. Giardiello FM, Brensinger JD, Tersmette AC, Goodman SN, Petersen GM, Booker S V, et al. Very high risk of cancer in familial Peutz-Jeghers syndrome. *Gastroenterology.* 2000 Dec;119(6):1447–53.
  33. Turpin A, Cattan S, Leclerc J, Wacrenier A, Manouvrier-Hanu S, Buisine M-P, et al. Hereditary predisposition to cancers of the digestive tract, breast, gynecological and gonadal: Focus on the Peutz-Jeghers. [doi.org](https://doi.org/10.1016/j.jco.2014.09.013). 2014 Sep;101(9):813–22.
  34. Herrmann JL, Byekova Y, Elmets CA, Athar M. Liver Kinase B1 (LKB1) in the pathogenesis of epithelial cancers. *Cancer Lett.* 2011 Jul;306(1):1–9.
  35. Caldeira JRF, Prando EC, Quevedo FC, Neto FAM, Rainho CA, Rogatto SR. CDH1 promoter hypermethylation and E-cadherin protein expression in infiltrating breast cancer. *BMC Cancer.* 2006 Mar;6(1):48.
  36. van Roy F, Berx G. The cell-cell adhesion molecule E-cadherin. *Cell Mol Life Sci.* 2008;65(23):3756–88.
  37. De Leeuw WJ, Berx G, Vos CB, Peterse JL, Van de Vijver MJ, Litvinov S, et al. Simultaneous loss of E-cadherin and catenins in invasive lobular breast cancer and lobular carcinoma in situ. *J Pathol.* 1997;183(4):404–11.

38. Newcomb PA, Trentham-Dietz A, Hampton JM, Egan KM, Titus-Ernstoff L, Warren Andersen S, et al. Late age at first full term birth is strongly associated with lobular breast cancer. *Cancer*. 2011 May;117(9):1946–56.
39. Reeves GK, Pirie K, Green J, Bull D, Beral V, Million Women Study Collaborators. Reproductive factors and specific histological types of breast cancer: prospective study and meta-analysis. *Br J Cancer*. 2009 Feb;100(3):538–44.
40. Calle EE, Heath CW, Coates RJ, Liff JM, Franceschi S, Talamini R, et al. Breast cancer and hormone replacement therapy: Collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. *Lancet*. 1997 Oct;350(9084):1047–59.
41. Lahmann PH, Hoffmann K, Allen N, van Gils CH, Khaw K-T, Tehard B, et al. Body size and breast cancer risk: findings from the European Prospective Investigation into Cancer And Nutrition (EPIC). *Int J cancer*. 2004 Sep;111(5):762–71.
42. Demark-Wahnefried W, Peterson B, McBride C, Lipkus I, Clipp E. Current health behaviors and readiness to pursue life-style changes among men and women diagnosed with early stage prostate and breast carcinomas. *Cancer*. 2000 Feb 1;88(3):674–84.
43. Park Y-MM, White AJ, Nichols HB, O'Brien KM, Weinberg CR, Sandler DP. The association between metabolic health, obesity phenotype and the risk of breast cancer. *Int J Cancer*. 2017 Mar 7;
44. Cohen DH, LeRoith D. Obesity, type 2 diabetes, and cancer: the

- insulin and IGF connection. *Endocr Relat Cancer*. 2012 Oct 5;19(5):F27-45.
45. Ziegler RG, Hoover RN, Nomura AM, West DW, Wu AH, Pike MC, et al. Relative weight, weight change, height, and breast cancer risk in Asian-American women. *J Natl Cancer Inst*. 1996 May;88(10):650–60.
46. Eliassen AH, Colditz GA, Rosner B, Willett WC, Hankinson SE. Adult Weight Change and Risk of Postmenopausal Breast Cancer. *JAMA*. 2006 Jul 12;296(2):193.
47. Rosner B, Eliassen AH, Toriola AT, Chen WY, Hankinson SE, Willett WC, et al. Weight and weight changes in early adulthood and later breast cancer risk. *Int J Cancer*. 2017 May 1;140(9):2003–14.
48. Demark-Wahnefried W, Campbell KL, Hayes SC. Weight management and its role in breast cancer rehabilitation. *Cancer*. 2012;118(8 Suppl):2277–87.
49. Majed B, Moreau T, Senouci K, Salmon RJ, Fourquet A, Asselain B. Is obesity an independent prognosis factor in woman breast cancer? *Breast Cancer Res Treat*. 2008 Sep 16;111(2):329–42.
50. Bernstein L, Patel A V, Ursin G, Sullivan-Halley J, Press MF, Deapen D, et al. Lifetime recreational exercise activity and breast cancer risk among black women and white women. *J Natl Cancer Inst*. 2005 Nov 16;97(22):1671–9.
51. Farvid MS, Cho E, Chen WY, Eliassen AH, Willett WC. Adolescent meat intake and breast cancer risk. *Int J Cancer*. 2015 Apr

15;136(8):1909–20.

52. Linos E, Willett WC, Cho E, Colditz G, Frazier LA. Red Meat Consumption during Adolescence among Premenopausal Women and Risk of Breast Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008 Aug 1;17(8):2146–51.
53. Alexander DD, Morimoto LM, Mink PJ, Cushing CA. A review and meta-analysis of red and processed meat consumption and breast cancer. *Nutr Res Rev.* 2010 Dec 26;23(2):349–65.
54. Kabat GC, Cross AJ, Park Y, Schatzkin A, Hollenbeck AR, Rohan TE, et al. Meat intake and meat preparation in relation to risk of postmenopausal breast cancer in the NIH-AARP diet and health study. *Int J Cancer.* 2009 May 15;124(10):2430–5.
55. Boffetta P, Couto E, Wichmann J, Ferrari P, Trichopoulos D, Bueno-de-Mesquita HB, et al. Fruit and vegetable intake and overall cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *J Natl Cancer Inst.* 2010 Apr 21;102(8):529–37.
56. Rock CL, Flatt SW, Thomson CA, Stefanick ML, Newman VA, Jones LA, et al. Effects of a High-Fiber, Low-Fat Diet Intervention on Serum Concentrations of Reproductive Steroid Hormones in Women With a History of Breast Cancer. *J Clin Oncol.* 2004 Jun 15;22(12):2379–87.
57. Thomson CA, Rock CL, Thompson PA, Caan BJ, Cussler E, Flatt SW, et al. Vegetable intake is associated with reduced breast cancer recurrence in tamoxifen users: a secondary analysis from the Women’s Healthy Eating and Living Study. *Breast Cancer Res Treat.*

- 2011 Jan 6;125(2):519–27.
58. Vadodkar AS, Suman S, Lakshmanaswamy R, Damodaran C. Chemoprevention of breast cancer by dietary compounds. *Anticancer Agents Med Chem.* 2012 Dec;12(10):1185–202.
59. Allemani C, Berrino F, Krogh V, Sieri S, Pupa SM, Tagliabue E, et al. Do pre-diagnostic drinking habits influence breast cancer survival? *Tumori.* 2011;97(2):142–8.
60. Bowlin SJ, Leske MC, Varma A, Nasca P, Weinstein A, Caplan L. Breast cancer risk and alcohol consumption: results from a large case-control study. *Int J Epidemiol.* 1997 Oct;26(5):915–23.
61. Smith-Warner SA, Spiegelman D, Yaun SS, van den Brandt PA, Folsom AR, Goldbohm RA, et al. Alcohol and breast cancer in women: a pooled analysis of cohort studies. *JAMA.* 1998 Feb 18;279(7):535–40.
62. Reding KW, Daling JR, Doody DR, O'Brien CA, Porter PL, Malone KE. Effect of prediagnostic alcohol consumption on survival after breast cancer in young women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008 Aug 1;17(8):1988–96.
63. Barnett GC, Shah M, Redman K, Easton DF, Ponder BAJ, Pharoah PDP. Risk factors for the incidence of breast cancer: do they affect survival from the disease? *J Clin Oncol.* 2008 Jul 10;26(20):3310–6.
64. Johnson KC, Miller AB, Collishaw NE, Palmer JR, Hammond SK, Salmon AG, et al. Active smoking and secondhand smoke increase breast cancer risk: the report of the Canadian Expert Panel on

- Tobacco Smoke and Breast Cancer Risk (2009). *Tob Control*. 2011 Jan 1;20(1):e2.
65. Kropp S, Chang-Claude J. Active and passive smoking and risk of breast cancer by age 50 years among German women. *Am J Epidemiol*. 2002 Oct 1;156(7):616–26.
66. Rosen PP. Rosen's breast pathology. Lippincott Williams & Wilkins; 2001. 1004 p.
67. Hindle WH. Breast mass evaluation. *Clin Obstet Gynecol*. 2002 Sep;45(3):750–7.
68. Lee, Dershaw D, Kopans D, Evans P, Monsees B, Monticciolo D, et al. Breast cancer screening with imaging: recommendations from the Society of Breast Imaging and the ACR on the use of mammography, breast MRI, breast ultrasound, and other technologies for the detection of clinically occult breast cancer. *J Am Coll Radiol*. 2010 Jan;7(1):18–27.
69. Nelson HD, Tyne K, Naik A, Bougatsos C, Chan BK, Humphrey L, et al. Screening for Breast Cancer: An Update for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*. 2009 Nov 17;151(10):727.
70. Berg WA, Zhang Z, Lehrer D, Jong RA, Pisano ED, Barr RG, et al. Detection of breast cancer with addition of annual screening ultrasound or a single screening MRI to mammography in women with elevated breast cancer risk. *JAMA*. 2012 Apr 4;307(13):1394–404.
71. Soerjomataram I, Louwman MWJ, Ribot JG, Roukema JA, Coebergh



- JWW. An overview of prognostic factors for long-term survivors of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2008 Feb 22;107(3):309–30.
72. Tavassoli, Fattaneh. Devilee P. Tumors of the breast and female genital organs. Third. Tavassoli, Fattaneh. Devilee P, editor. IARC; 2003.
73. 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.* 2002 Sep;41(3A):154–61.
74. Bloom HJ, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer; a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer.* 1957 Sep;11(3):359–77.
75. 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 Nov;19(5):403–10.
76. Rakha EA, El-Sayed ME, Lee AHS, Elston CW, Grainge MJ, Hodi Z, et al. Prognostic Significance of Nottingham Histologic Grade in Invasive Breast Carcinoma. *J Clin Oncol.* 2008 Jul 1;26(19):3153–8.
77. Hortobagyi GN, Connolly JL, D’Orsi CJ, Edge SB, Mittendorf EA, Rugo HS, et al. *AJCC Cancer Staging Manual, Eighth Edition: Breast.* 2017. 589-636 p.
78. Patani N, Martin L-A, Dowsett M. Biomarkers for the clinical management of breast cancer: International perspective. *Int J Cancer.*

2013 Jul;133(1):1–13.

79. Clarke RB. Steroid receptors and proliferation in the human breast. *Steroids*. 2003 Nov;68(10–13):789–94.
80. Couse JF, Lindzey J, Grandien K, Gustafsson JA, Korach KS. Tissue distribution and quantitative analysis of estrogen receptor-alpha (ERalpha) and estrogen receptor-beta (ERbeta) messenger ribonucleic acid in the wild-type and ERalpha-knockout mouse. *Endocrinology*. 1997 Nov;138(11):4613–21.
81. Cordera F, Jordan V. Steroid Receptors and Their Role in the Biology and Control of Breast Cancer Growth. *Semin Oncol*. 2006 Dec;33(6):631–41.
82. Rastelli F, Crispino S. Factors predictive of response to hormone therapy in breast cancer. *Tumori*. 2008;94(3):370–83.
83. Krishnamurti U, Silverman JF. HER2 in Breast Cancer. *Adv Anat Pathol*. 2014 Mar;21(2):100–7.
84. Allred DC. Issues and updates: evaluating estrogen receptor- $\alpha$ , progesterone receptor, and HER2 in breast cancer. *Mod Pathol*. 2010 May;23:S52–9.
85. 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 Aug 15;11(16):5678–85.
86. Jackisch C, Harbeck N, Huober J, von Minckwitz G, Gerber B, Kreipe H-H, et al. 14th St. Gallen International Breast Cancer

- Conference 2015: Evidence, Controversies, Consensus - Primary Therapy of Early Breast Cancer: Opinions Expressed by German Experts. *Breast Care (Basel)*. 2015 Jul;10(3):211–9.
87. Duchrow M, Schlüter C, Wohlenberg C, Flad HD, Gerdes J. Molecular characterization of the gene locus of the human cell proliferation-associated nuclear protein defined by monoclonal antibody Ki-67. *Cell Prolif*. 1996 Jan;29(1):1–12.
88. Beresford MJ, Wilson GD, Makris A. Measuring proliferation in breast cancer: practicalities and applications. *Breast Cancer Res*. 2006 Dec 30;8(6):216.
89. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart MJ, Thurlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol*. 2013 Sep 1;24(9):2206–23.
90. Urruticoechea A, Smith IE, Dowsett M. Proliferation Marker Ki-67 in Early Breast Cancer. *J Clin Oncol*. 2005 Oct 1;23(28):7212–20.
91. Polley M-YC, Leung SCY, McShane LM, Gao D, Hugh JC, Mastropasqua MG, et al. An International Ki67 Reproducibility Study. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2013 Dec 18;105(24):1897–906.
92. Reis-Filho J, Lakhani S. Breast cancer special types: why bother? *J Pathol*. 2008 Dec;216(4):394–8.
93. Weigelt B, Reis-Filho JS. Histological and molecular types of breast cancer: is there a unifying taxonomy? *Nat Rev Clin Oncol*. 2009

- Dec;6(12):718–30.
94. Perou CM, Sørli T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000 Aug 17;406(6797):747–52.
  95. Sørli 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 Sep 11;98(19):10869–74.
  96. O’Brien KM, Cole SR, Tse C-K, Perou CM, Carey LA, Foulkes WD, et al. Intrinsic Breast Tumor Subtypes, Race, and Long-Term Survival in the Carolina Breast Cancer Study. *Clin Cancer Res*. 2010 Dec 15;16(24):6100–10.
  97. Sotiriou C, Neo S-Y, McShane LM, Korn EL, Long PM, Jazaeri A, et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Sep 2;100(18):10393–8.
  98. Smith I, Procter M, Gelber RD, Guillaume S, Feyereislova A, Dowsett M, et al. 2-year follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2007 Jan 6;369(9555):29–36.
  99. Livasy CA, Karaca G, Nanda R, Tretiakova MS, Olopade OI, Moore DT, et al. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol*. 2006 Feb 2;19(2):264–71.
  100. Cuzick J, Dowsett M, Pineda S, Wale C, Salter J, Quinn E, et al.

- Prognostic Value of a Combined Estrogen Receptor, Progesterone Receptor, Ki-67, and Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Immunohistochemical Score and Comparison With the Genomic Health Recurrence Score in Early Breast Cancer. *J Clin Oncol*. 2011 Nov 10;29(32):4273–8.
101. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thurlimann B, Senn H-J, et al. 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 Aug 1;22(8):1736–47.
102. Prat A, Cheang MCU, Martín M, Parker JS, Carrasco E, Caballero R, et al. Prognostic significance of progesterone receptor-positive tumor cells within immunohistochemically defined luminal A breast cancer. *J Clin Oncol*. 2013 Jan 10;31(2):203–9.
103. Bastien RRL, Rodríguez-Lescure Á, Ebbert MTW, Prat A, Munárriz B, Rowe L, et al. PAM50 breast cancer subtyping by RT-qPCR and concordance with standard clinical molecular markers. *BMC Med Genomics*. 2012 Oct 4;5(1):44.
104. Hammond MEH. ASCO-CAP Guidelines for Breast Predictive Factor Testing. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2011 Dec;19(6):499–500.
105. Halsted WS. I. The Results of Radical Operations for the Cure of Carcinoma of the Breast. *Ann Surg*. 1907 Jul;46(1):1–19.
106. Morris AD, Morris RD, Wilson JF, White J, Steinberg S, Okunieff P, et al. Breast-conserving therapy vs mastectomy in early-stage breast

- cancer: a meta-analysis of 10-year survival. *Cancer J Sci Am.* 1997;3(1):6–12.
107. Veronesi U, Marubini E, Del Vecchio M, Manzari A, Andreola S, Greco M, et al. Local recurrences and distant metastases after conservative breast cancer treatments: partly independent events. *J Natl Cancer Inst.* 1995 Jan 4;87(1):19–27.
108. Veronesi U, Cascinelli N, Mariani L, Greco M, Saccozzi R, Luini A, et al. Twenty-year follow-up of a randomized study comparing breast-conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer. *N Engl J Med.* 2002 Oct 17;347(16):1227–32.
109. Aziz D, Rawlinson E, Narod SA, Sun P, Lickley HLA, McCready DR, et al. The Role of Reexcision for Positive Margins in Optimizing Local Disease Control After Breast-Conserving Surgery for Cancer. *Breast J.* 2006 Jul;12(4):331–7.
110. Miller AR, Brandao G, Prihoda TJ, Hill C, Cruz AB, Yeh I-T. Positive margins following surgical resection of breast carcinoma: analysis of pathologic correlates. *J Surg Oncol.* 2004 Jun 1;86(3):134–40.
111. Singletary SE. Surgical margins in patients with early-stage breast cancer treated with breast conservation therapy. *Am J Surg.* 2002 Nov;184(5):383–93.
112. 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 May;365(9472):1687–717.

113. 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 Apr 20;24(12):1940–9.
114. Untch M, Konecny GE, Paepke S, von Minckwitz G. Current and future role of neoadjuvant therapy for breast cancer. *The Breast*. 2014 Oct;23(5):526–37.
115. 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 Mar;180(3):297–306.
116. Mailliez A, Baranzelli MC, Giard S, Ceugnart L, Vanlemmens L, Belkacemi Y, et al. Is there a reliable method to assess the complete pathologic response on the tumor after neo-adjuvant chemotherapy in inflammatory breast cancer toward recommendations for the pathologic process? Experience in 56 patients treated in a single institution. *Breast J*. 2010 Sep;16(5):464–71.
117. 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 Oct;12(5):320–7.
118. Rapoport BL, Demetriou GS, Moodley SD, Benn CA. When and How Do I Use Neoadjuvant Chemotherapy for Breast Cancer? *Curr Treat Options Oncol*. 2014 Mar 5;15(1):86–98.

119. Gradishar WJ, Anderson BO, Balassanian R, Blair SL, Burstein HJ, Cyr A, et al. Invasive Breast Cancer Version 1.2016, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2016 Mar;14(3):324–54.
120. Ruano R, Ramos M, García-Talavera JR, Ramos T, Rosero AS, González-Orus JM, et al. Sentinel node biopsy after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. Its relation with molecular subtypes. *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol*. 2014 Nov;33(6):340–5.
121. Boughey JC, McCall LM, Ballman K V., Mittendorf EA, Ahrendt GM, Wilke LG, et al. Tumor Biology Correlates With Rates of Breast-Conserving Surgery and Pathologic Complete Response After Neoadjuvant Chemotherapy for Breast Cancer. *Ann Surg*. 2014 Oct;260(4):608–16.
122. Nabholz JM, Buzdar A, Pollak M, Harwin W, Burton G, Mangalik A, et al. Anastrozole is superior to tamoxifen as first-line therapy for advanced breast cancer in postmenopausal women: results of a North American multicenter randomized trial. Arimidex Study Group. *J Clin Oncol*. 2000 Nov 15;18(22):3758–67.
123. Mokbel K. The evolving role of aromatase inhibitors in breast cancer. *Int J Clin Oncol*. 2002 Oct;7(5):279–83.
124. Lees AW, Giuffre C, Burns PE, Hurlburt ME, Jenkins HJ. Oophorectomy versus radiation ablation of ovarian function in patients with metastatic carcinoma of the breast. *Surg Gynecol Obstet*. 1980 Dec;151(6):721–4.
125. Burstein HJ, Prestrud AA, Seidenfeld J, Anderson H, Buchholz TA,



- Davidson NE, et al. American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline: update on adjuvant endocrine therapy for women with hormone receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol*. 2010 Aug 10;28(23):3784–96.
126. Dowsett M, Cuzick J, Ingle J, Coates A, Forbes J, Bliss J, et al. Meta-Analysis of Breast Cancer Outcomes in Adjuvant Trials of Aromatase Inhibitors Versus Tamoxifen. *J Clin Oncol*. 2010 Jan 20;28(3):509–18.
127. Clarke, Collins R, Darby S, Davies C, Elphinstone P, Evans V, et al. Effects of radiotherapy and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet*. 2005 Dec 17;366(9503):2087–106.
128. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), Darby S, McGale P, Correa C, Taylor C, Arriagada R, 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 Nov 12;378(9804):1707–16.
129. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer*. 1989 Jan 1;63(1):181–7.
130. Ponzzone R, Ruatta F, Gatti M, Castellano I, Geuna E, Amato G, et al. Omission of axillary dissection after a positive sentinel lymph-node: Implications in the multidisciplinary treatment of operable breast

- cancer. *Cancer Treat Rev.* 2016;48:1–7.
131. Ververs JM, Roumen RM, Vingerhoets AJ, Vreugdenhil G, Coebergh JW, Crommelin MA, et al. Risk, severity and predictors of physical and psychological morbidity after axillary lymph node dissection for breast cancer. *Eur J Cancer.* 2001 May;37(8):991–9.
132. Voogd AC, Ververs JMMA, Vingerhoets AJJM, Roumen RMH, Coebergh JWW, Crommelin MA. Lymphoedema and reduced shoulder function as indicators of quality of life after axillary lymph node dissection for invasive breast cancer. *Br J Surg.* 2003 Jan;90(1):76–81.
133. Schrenk P, Rieger R, Shamiyeh A, Wayand W. Morbidity following sentinel lymph node biopsy versus axillary lymph node dissection for patients with breast carcinoma. *Cancer.* 2000 Feb 1;88(3):608–14.
134. Crane-Okada R, Wascher RA, Elashoff D, Giuliano AE. Long-Term Morbidity of Sentinel Node Biopsy Versus Complete Axillary Dissection for Unilateral Breast Cancer. *Ann Surg Oncol.* 2008 Jul 16;15(7):1996–2005.
135. Lucci A, McCall LM, Beitsch PD, Whitworth PW, Reintgen DS, Blumencranz PW, et al. Surgical complications associated with sentinel lymph node dissection (SLND) plus axillary lymph node dissection compared with SLND alone in the American College of Surgeons Oncology Group Trial Z0011. *J Clin Oncol.* 2007 Aug 20;25(24):3657–63.
136. Lucci A, McCall LM, Beitsch PD, Whitworth PW, Reintgen DS, Blumencranz PW, et al. Surgical complications associated with

- sentinel lymph node dissection (SLND) plus axillary lymph node dissection compared with SLND alone in the American College of Surgeons Oncology Group Trial Z0011. *J Clin Oncol.* 2007 Aug 20;25(24):3657–63.
137. Cabanas RM. An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer.* 1977 Feb;39(2):456–66.
138. Cabanas RM. The concept of the sentinel lymph node. *Recent Results Cancer Res.* 2000;157:109–20.
139. Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg.* 1992 Apr;127(4):392–9.
140. Krag DN, Weaver DL, Alex JC, Fairbank JT. Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. *Surg Oncol.* 1993 Dec;2(6):335–9; discussion 340.
141. Krag D, Weaver D, Ashikaga T, Moffat F, Klimberg VS, Shriver C, et al. The Sentinel Node in Breast Cancer — A Multicenter Validation Study. *N Engl J Med.* 1998 Oct 1;339(14):941–6.
142. Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg.* 1994 Sep;220(3):391-8; discussion 398-401.
143. Veronesi U, Paganelli G, Galimberti V, Viale G, Zurrada S, Bedoni M, et al. Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. *Lancet (London, England).* 1997 Jun 28;349(9069):1864–7.

144. Veronesi U. The sentinel node and breast cancer. *Br J Surg.* 1999 Jan;86(1):1–2.
145. Grube BJ, Giuliano AE. Observation of the breast cancer patient with a tumor-positive sentinel node: implications of the ACOSOG Z0011 trial. *Semin Surg Oncol.* 2001;20(3):230–7.
146. Gur AS, Unal B, Johnson R, Ahrendt G, Bonaventura M, Gordon P, et al. Predictive probability of four different breast cancer nomograms for nonsentinel axillary lymph node metastasis in positive sentinel node biopsy. *J Am Coll Surg.* 2009 Feb;208(2):229–35.
147. Bernet L, Piñero A, Vidal-Sicart S, Peg V, Giménez J, Algara M, et al. Consenso sobre la biopsia selectiva del ganglio centinela en el cáncer de mama. Revisión 2013 de la Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria. *Rev Española Patol.* 2014 Jan;47(1):22–32.
148. Rosen, Saigo PE, Braun DW, Weathers E, Fracchia AA, Kinne DW. Axillary micro- and macrometastases in breast cancer: prognostic significance of tumor size. *Ann Surg.* 1981 Nov;194(5):585–91.
149. Meattini I, Desideri I, Saieva C, Francolini G, Scotti V, Bonomo P, et al. Impact of sentinel node tumor burden on outcome of invasive breast cancer patients. *Eur J Surg Oncol.* 2014 Oct;40(10):1195–202.
150. Gusterson BA. The new TNM classification and micrometastases. *Breast.* 2003 Dec;12(6):387–90.
151. Shimazu K, Tamaki Y, Taguchi T, Tsukamoto F, Kasugai T, Noguchi S. Intraoperative frozen section analysis of sentinel lymph node in

- breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Ann Surg Oncol*. 2008 Jun 12;15(6):1717–22.
152. Gimbergues P, Dauplat MM, Durando X, Abrial C, Le Bouedec G, Mouret-Reynier MA, et al. Intraoperative imprint cytology examination of sentinel lymph nodes after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *Ann Surg Oncol*. 2010 Aug 13;17(8):2132–7.
153. Elliott RM, Shenk RR, Thompson CL, Gilmore HL. Touch Preparations for the Intraoperative Evaluation of Sentinel Lymph Nodes After Neoadjuvant Therapy Have High False-Negative Rates in Patients With Breast Cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2014 Jun;138(6):814–8.
154. Cserni G, Amendoeira I, Apostolikas N, Bellocq JP, Bianchi S, Boecker W, et al. Discrepancies in current practice of pathological evaluation of sentinel lymph nodes in breast cancer. Results of a questionnaire based survey by the European Working Group for Breast Screening Pathology. *J Clin Pathol*. 2004 Jul 1;57(7):695–701.
155. Cserni G. Intraoperative analysis of sentinel lymph nodes in breast cancer by one-step nucleic acid amplification. *J Clin Pathol*. 2012 Mar;65(3):193–9.
156. Tsujimoto M, Nakabayashi K, Yoshidome K, Kaneko T, Iwase T, Akiyama F, et al. One-step nucleic acid amplification for intraoperative detection of lymph node metastasis in breast cancer patients. *Clin Cancer Res*. 2007 Aug 15;13(16):4807–16.
157. Espinosa-Bravo M, Sansano I, Pérez-Hoyos S, Ramos M, Sancho M,

- Xercavins J, et al. Prediction of non-sentinel lymph node metastasis in early breast cancer by assessing total tumoral load in the sentinel lymph node by molecular assay. *Eur J Surg Oncol*. 2013 Jul;39(7):766–73.
158. Tafra L, Verbanac KM, Lannin DR. Preoperative chemotherapy and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Am J Surg*. 2001 Oct;182(4):312–5.
159. Kuehn T, Bauerfeind I, Fehm T, Fleige B, Hausschild M, Helms G, et al. Sentinel-lymph-node biopsy in patients with breast cancer before and after neoadjuvant chemotherapy (SENTINA): a prospective, multicentre cohort study. *Lancet Oncol*. 2013 Jun;14(7):609–18.
160. Mamounas EP, Brown A, Anderson S, Smith R, Julian T, Miller B, et al. Sentinel Node Biopsy After Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer: Results From National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. *J Clin Oncol*. 2005 Apr 20;23(12):2694–702.
161. Boughey JC, Suman VJ, Mittendorf EA, Ahrendt GM, Wilke LG, Taback B, et al. Factors Affecting Sentinel Lymph Node Identification Rate After Neoadjuvant Chemotherapy for Breast Cancer Patients Enrolled in ACOSOG Z1071 (Alliance). *Ann Surg*. 2015 Mar;261(3):547–52.
162. Mittendorf EA, Caudle AS, Yang W, Krishnamurthy S, Shaitelman S, Chavez-MacGregor M, et al. Implementation of the American College of Surgeons Oncology Group Z1071 Trial Data in Clinical Practice: Is There a Way Forward for Sentinel Lymph Node Dissection in Clinically Node-Positive Breast Cancer Patients Treated

- with Neoadjuvant Chemotherapy? *Ann Surg Oncol*. 2014 Aug 20;21(8):2468–73.
163. Caudle AS, Yang WT, Mittendorf EA, Black DM, Hwang R, Hobbs B, et al. Selective Surgical Localization of Axillary Lymph Nodes Containing Metastases in Patients With Breast Cancer. *JAMA Surg*. 2015 Feb 1;150(2):137.
164. Guenther JM, Hansen NM, DiFronzo LA, Giuliano AE, Collins JC, Grube BL, et al. Axillary dissection is not required for all patients with breast cancer and positive sentinel nodes. *Arch Surg*. 2003 Jan;138(1):52–6.
165. Gipponi M, Canavese G, Lionetto R, Catturich A, Vecchio C, Sapino A, et al. The role of axillary lymph node dissection in breast cancer patients with sentinel lymph node micrometastases. *Eur J Surg Oncol*. 2006 Mar;32(2):143–7.
166. Zakaria S, Pantvaidya G, Reynolds CA, Grant CS, Sterioff S, Donohue JH, et al. Sentinel node positive breast cancer patients who do not undergo axillary dissection: Are they different? *Surgery*. 2008 May;143(5):641–7.
167. Giuliano, Ballman K, McCall L, Beitsch P, Whitworth PW, Blumencranz P, et al. Locoregional Recurrence After Sentinel Lymph Node Dissection With or Without Axillary Dissection in Patients With Sentinel Lymph Node Metastases. *Ann Surg*. 2016 Sep;264(3):413–20.
168. Galimberti V, Cole BF, Zurrada S, Viale G, Luini A, Veronesi P, et al. Axillary dissection versus no axillary dissection in patients with

- sentinel-node micrometastases (IBCSG 23-01): A phase 3 randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2013;14(4).
169. Dixon JM, Rutgers E, Hunt KK. Intraoperative assessment of axillary lymph nodes in patients with breast cancer. *BMJ.* 2014 Nov 25;349:g6803.
170. Osako T, Tsuda H, Horii R, Iwase T, Yamauchi H, Yagata H, et al. Molecular detection of lymph node metastasis in breast cancer patients treated with preoperative systemic chemotherapy: a prospective multicentre trial using the one-step nucleic acid amplification assay. *Br J Cancer.* 2013 Sep 17;109(6):1693–8.
171. Espinosa-Bravo M, Navarro-Cecilia J, Ramos Boyero M, Diaz-Botero S, Dueñas Rodríguez B, Luque López C, et al. Intraoperative assessment of sentinel lymph node by one-step nucleic acid amplification in breast cancer patients after neoadjuvant treatment reduces the need for a second surgery for axillary lymph node dissection. *The Breast.* 2017 Feb;31:40–5.
172. Parkin M, Bray F, Ferlay J, Pisani P, Parkin DM, Bray F, et al. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer.* 2001 Oct 15;94(2):153–6.
173. Peg V, Espinosa-Bravo M, Vieites B, Vilardell F, Antúnez JR, De Salas MS, et al. Intraoperative molecular analysis of total tumor load in sentinel lymph node: A new predictor of axillary status in early breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 2013;139(1).
174. Rebollo-Aguirre AC, Gallego-Peinado M, Sánchez-Sánchez R, García-García J, Pastor-Pons E, Chamorro-Santos CE, et al. Biopsia



- del ganglio centinela y quimioterapia neoadyuvante en pacientes con cáncer de mama: nuestra experiencia. *Rev Senol y Patol Mamar*. 2016 Jan;29(1):4–12.
175. Park S, Koo JS, Kim MS, Park HS, Lee JS, Lee JS, et al. Characteristics and outcomes according to molecular subtypes of breast cancer as classified by a panel of four biomarkers using immunohistochemistry. *The Breast*. 2012 Feb;21(1):50–7.
176. Kim H-S, Park I, Cho HJ, Gwak G, Yang K, Bae BN, et al. Analysis of the Potent Prognostic Factors in Luminal-Type Breast Cancer. *J Breast Cancer*. 2012 Dec;15(4):401.
177. Goldstein NS, Decker D, Severson D, Schell S, Vicini F, Margolis J, et al. Molecular classification system identifies invasive breast carcinoma patients who are most likely and those who are least likely to achieve a complete pathologic response after neoadjuvant chemotherapy. *Cancer*. 2007 Oct 15;110(8):1687–96.
178. Nguyen PL, Taghian AG, Katz MS, Niemierko A, Abi Raad RF, Boon WL, et al. Breast cancer subtype approximated by estrogen receptor, progesterone receptor, and HER-2 is associated with local and distant recurrence after breast-conserving therapy. *J Clin Oncol*. 2008 May 10;26(14):2373–8.
179. Gianni L, Dafni U, Gelber RD, Azambuja E, Muehlbauer S, Goldhirsch A, et al. Treatment with trastuzumab for 1 year after adjuvant chemotherapy in patients with HER2-positive early breast cancer: a 4-year follow-up of a randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2011 Mar;12(3):236–44.

180. Nahta R, Yuan LXH, Zhang B, Kobayashi R, Esteva FJ. Insulin-like growth factor-I receptor/human epidermal growth factor receptor 2 heterodimerization contributes to trastuzumab resistance of breast cancer cells. *Cancer Res.* 2005 Dec 1;65(23):11118–28.
181. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA.* 2006 Jun 7;295(21):2492–502.
182. Bosch A, Eroles P, Zaragoza R, Viña JR, Lluch A. Triple-negative breast cancer: Molecular features, pathogenesis, treatment and current lines of research. *Cancer Treat Rev.* 2010 May;36(3):206–15.
183. Bauer KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California cancer Registry. *Cancer.* 2007 May 1;109(9):1721–8.
184. Sweeney C, Bernard PS, Factor RE, Kwan ML, Habel LA, Quesenberry CP, et al. Intrinsic subtypes from PAM50 gene expression assay in a population-based breast cancer cohort: differences by age, race, and tumor characteristics. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2014 May;23(5):714–24.
185. Weigelt B, Geyer FC, Reis-Filho JS. Histological types of breast cancer: How special are they? *Mol Oncol.* 2010 Jun;4(3):192–208.
186. Gralow JR, Burstein HJ, Wood W, Hortobagyi GN, Gianni L, von Minckwitz G, et al. Preoperative therapy in invasive breast cancer: pathologic assessment and systemic therapy issues in operable

- disease. *J Clin Oncol*. 2008 Feb 10;26(5):814–9.
187. von Minckwitz G, Blohmer JU, Costa SD, Denkert C, Eidtmann H, Eiermann W, et al. Response-Guided Neoadjuvant Chemotherapy for Breast Cancer. *J Clin Oncol*. 2013 Oct 10;31(29):3623–30.
188. 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 Feb 10;26(5):778–85.
189. Wang-Lopez Q, Chalabi N, Abrial C, Radosevic-Robin N, Durando X, Mouret-Reynier M-A, et al. Can pathologic complete response (pCR) be used as a surrogate marker of survival after neoadjuvant therapy for breast cancer? *Crit Rev Oncol Hematol*. 2015 Jul;95(1):88–104.
190. Barrou J, Bannier M, Cohen M, Lambaudie E, Gonçalves A, Bertrand P, et al. Pathological complete response in invasive breast cancer treated by skin sparing mastectomy and immediate reconstruction following neoadjuvant chemotherapy and radiation therapy: Comparison between immunohistochemical subtypes. *The Breast*. 2017;32:37–43.
191. Byrski T, Gronwald J, Huzarski T, Grzybowska E, Budryk M, Stawicka M, et al. Pathologic Complete Response Rates in Young Women With *BRCA1* -Positive Breast Cancers After Neoadjuvant Chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2010 Jan 20;28(3):375–9.
192. Tadros AB, Yang WT, Krishnamurthy S, Rauch GM, Smith BD, Valero V, et al. Identification of Patients With Documented

- Pathologic Complete Response in the Breast After Neoadjuvant Chemotherapy for Omission of Axillary Surgery. *JAMA Surg.* 2017 Jul 1;152(7):665.
193. Kurosumi M, Akashi-Tanaka S, Akiyama F, Komoike Y, Mukai H, Nakamura S, et al. Histopathological criteria for assessment of therapeutic response in breast cancer (2007 version). *Breast Cancer.* 2008 Jan 29;15(1):5–7.
194. Le Guellec S, Perallon R, Alunni J-P, Charitansky H, Leaha C, Gonzalez AM, et al. [Neoadjuvant treatment of breast cancer: implications for the pathologist]. *Ann Pathol.* 2011 Dec;31(6):442–54.
195. Rajan R, Esteva FJ, Symmans WF. Pathologic changes in breast cancer following neoadjuvant chemotherapy: implications for the assessment of response. *Clin Breast Cancer.* 2004 Aug;5(3):235–8.
196. Kuroi K, Toi M, Tsuda H, Kurosumi M, Akiyama F. Issues in the assessment of the pathologic effect of primary systemic therapy for breast cancer. *Breast Cancer.* 2006;13(1):38–48.
197. Kong X, Moran MS, Zhang N, Haffty B, Yang Q. Meta-analysis confirms achieving pathological complete response after neoadjuvant chemotherapy predicts favourable prognosis for breast cancer patients. *Eur J Cancer.* 2011 Sep;47(14):2084–90.
198. 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 Oct 1;25(28):4414–22.

199. von Minckwitz G, Untch M, Blohmer J-U, 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 May 20;30(15):1796–804.
200. 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(9938).
201. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, André F, Tordai A, Mejia JA, et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol*. 2008 Mar 10;26(8):1275–81.
202. Rivadeneira DE, Simmons RM, Christos PJ, Hanna K, Daly JM, Osborne MP. Predictive factors associated with axillary lymph node metastases in T1a and T1b breast carcinomas: analysis in more than 900 patients. *J Am Coll Surg*. 2000 Jul;191(1):1-6; discussion 6-8.
203. Lyman GH, Giuliano AE, Somerfield MR, Benson AB, Bodurka DC, Burstein HJ, et al. American Society of Clinical Oncology guideline recommendations for sentinel lymph node biopsy in early-stage breast cancer. *J Clin Oncol*. 2005 Oct 20;23(30):7703–20.
204. Kang SH, Kim S-K, Kwon Y, Kang H-S, Kang JH, Ro J, et al. Decreased Identification Rate of Sentinel Lymph Node after Neoadjuvant Chemotherapy. *World J Surg*. 2004 Oct 29;28(10):1019–24.

205. Papa MZ, Zippel D, Kaufman B, Shimon-Paluch S, Yosepovich A, Oberman B, et al. Timing of sentinel lymph node biopsy in patients receiving neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. *J Surg Oncol*. 2008 Nov 1;98(6):403–6.
206. Gimbergues P, Abrial C, Durando X, Bouedec G Le, Cachin F, Penault-Llorca F, et al. Sentinel Lymph Node Biopsy After Neoadjuvant Chemotherapy Is Accurate in Breast Cancer Patients with a Clinically Negative Axillary Nodal Status at Presentation. *Ann Surg Oncol*. 2008 May 1;15(5):1316–21.
207. Kang SH, Kang JH, Choi EA, Lee ES. Sentinel lymph node biopsy after neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer*. 2004;11(3):233-41; discussion 264-6.
208. Cohen LF, Breslin TM, Kuerer HM, Ross MI, Hunt KK, Sahin AA. Identification and evaluation of axillary sentinel lymph nodes in patients with breast carcinoma treated with neoadjuvant chemotherapy. *Am J Surg Pathol*. 2000 Sep;24(9):1266–72.
209. Hino M, Sano M, Sato N, Homma K. Sentinel lymph node biopsy after neoadjuvant chemotherapy in a patient with operable breast cancer. *Surg Today*. 2008 Jul 9;38(7):585–91.
210. Classe J-M, Bordes V, Campion L, Mignotte H, Dravet F, Leveque J, et al. Sentinel lymph node biopsy after neoadjuvant chemotherapy for advanced breast cancer: results of Ganglion Sentinelle et Chimiotherapie Neoadjuvante, a French prospective multicentric study. *J Clin Oncol*. 2009 Feb 10;27(5):726–32.
211. Hunt KK, Yi M, Mittendorf EA, Guerrero C, Babiera G V.,

- Bedrosian I, et al. Sentinel Lymph Node Surgery After Neoadjuvant Chemotherapy is Accurate and Reduces the Need for Axillary Dissection in Breast Cancer Patients. *Trans . Meet Am Surg Assoc.* 2009;127:189–97.
212. Parada D, Peña KB, Riu FF, Aguilar AE, Cohan S. Intraoperative molecular analysis of sentinel lymph nodes following neoadjuvant chemotherapy in patients with clinical node negative breast cancer: An institutional study. *Mol Clin Oncol.* 2016 Nov;5(5):507–10.
213. Rebollo-Aguirre AC, Gallego-Peinado M, Menjón-Beltrán S, García-García J, Pastor-Pons E, Chamorro-Santos CE, et al. Biopsia del ganglio centinela en pacientes con cáncer de mama operable tratadas con quimioterapia neoadyuvante. *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol.* 2012 May;31(3):117–23.
214. Donker M, van Tienhoven G, Straver ME, Meijnen P, van de Velde CJH, Mansel RE, et al. Radiotherapy or surgery of the axilla after a positive sentinel node in breast cancer (EORTC 10981-22023 AMAROS): A randomised, multicentre, open-label, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet Oncol.* 2014;15(12).
215. Tew K, Irwig L, Matthews A, Crowe P, Macaskill P. Meta-analysis of sentinel node imprint cytology in breast cancer. *Br J Surg.* 2005 Sep;92(9):1068–80.
216. Liu L-C, Lang JE, Lu Y, Roe D, Hwang SE, Ewing CA, et al. Intraoperative frozen section analysis of sentinel lymph nodes in breast cancer patients: a meta-analysis and single-institution experience. *Cancer.* 2011 Jan 15;117(2):250–8.

217. Osako T, Tsuda H, Horii R, Iwase T, Yamauchi H, Yagata H, et al. Molecular detection of lymph node metastasis in breast cancer patients treated with preoperative systemic chemotherapy: a prospective multicentre trial using the one-step nucleic acid amplification assay. *Br J Cancer*. 2013 Sep 17;109(6):1693–8.
218. Navarro-Cecilia J, Dueñas-Rodríguez B, Luque-López C, Ramírez-Expósito MJ, Martínez-Ferrol J, Ruíz-Mateas A, et al. Intraoperative sentinel node biopsy by one-step nucleic acid amplification (OSNA) avoids axillary lymphadenectomy in women with breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Surg Oncol*. 2013 Aug;39(8):873–9.
219. Banerjee SM, Williams NR, Davidson TI, El Sheikh S, Tran-Dang M, Davison S, et al. The use of onestep nucleic acid amplification (OSNA) and tumour related factors in the treatment of axillary breast cancer: A predictive model. *Eur J Surg Oncol*. 2016 May;42(5):641–9.
220. Heilmann T, Mathiak M, Hofmann J, Mundhenke C, van Mackelenbergh M, Alkatout I, et al. Intra-operative use of one-step nucleic acid amplification (OSNA) for detection of the tumor load of sentinel lymph nodes in breast cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2013 Oct 2;139(10):1649–55.
221. Piñero-Madrona A, Ruiz-Merino G, Bernet L, Miguel-Martínez B, Vicente-García F, Viguri-Díaz MA, et al. Tumoral load quantification of positive sentinel lymph nodes in breast cancer to predict more than two involved nodes. *The Breast*. 2014 Dec;23(6):859–64.



222. Rubio IT. Sentinel lymph node biopsy after neoadjuvant treatment in breast cancer: Work in progress. *Eur J Surg Oncol*. 2016 Mar 1;42(3):326–32.
223. Boileau J-F, Poirier B, Basik M, Holloway CMB, Gaboury L, Sideris L, et al. Sentinel Node Biopsy After Neoadjuvant Chemotherapy in Biopsy-Proven Node-Positive Breast Cancer: The SN FNAC Study. *J Clin Oncol*. 2015 Jan 20;33(3):258–64.
224. Fisher ER, Wang J, Bryant J, Fisher B, Mamounas E, Wolmark N. Pathobiology of preoperative chemotherapy: findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel (NSABP) protocol B-18. *Cancer*. 2002 Aug 15;95(4):681–95.
225. Mersch J, Jackson MA, Park M, Nebgen D, Peterson SK, Singletary C, et al. Cancers associated with BRCA1 and BRCA2 mutations other than breast and ovarian. *Cancer*. 2015 Jan 15;121(2):269–75.
226. Collins LC, Martyniak A, Kandel MJ, Stadler ZK, Masciari S, Miron A, et al. Basal cytokeratin and epidermal growth factor receptor expression are not predictive of BRCA1 mutation status in women with triple-negative breast cancers. *Am J Surg Pathol*. 2009 Jul;33(7):1093–7.
227. Lakhani SR, Van De Vijver MJ, Jacquemier J, Anderson TJ, Osin PP, McGuffog L, et al. The pathology of familial breast cancer: predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and p53 in patients with mutations in BRCA1 and BRCA2. *J Clin Oncol*. 2002 May 1;20(9):2310–8.
228. Hemel D, Domchek SM. Breast cancer predisposition syndromes.

- Hematol Oncol Clin North Am. 2010 Oct;24(5):799–814.
229. van Sprundel TC, Schmidt MK, Rookus MA, Brohet R, van Asperen CJ, Rutgers EJT, et al. Risk reduction of contralateral breast cancer and survival after contralateral prophylactic mastectomy in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers. *Br J Cancer*. 2005 Aug 8;93(3):287–92.
230. Metcalfe K, Gershman S, Ghadirian P, Lynch HT, Snyder C, Tung N, et al. Contralateral mastectomy and survival after breast cancer in carriers of BRCA1 and BRCA2 mutations: retrospective analysis. *BMJ*. 2014 Feb 11;348(feb11 9):g226–g226.
231. Domchek SM, Friebel TM, Singer CF, Evans DG, Lynch HT, Isaacs C, et al. Association of Risk-Reducing Surgery in BRCA1 or BRCA2 mutation Carriers with cancer risk and mortality. *JAMA*. 2010 Sep 1;304(9):967.
232. 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 Mar 1;28(7):1145–53.
233. Arun B, Bayraktar S, Liu DD, Gutierrez Barrera AM, Atchley D, Puztai L, et al. Response to neoadjuvant systemic therapy for breast cancer in BRCA mutation carriers and noncarriers: a single-institution experience. *J Clin Oncol*. 2011 Oct 1;29(28):3739–46.