



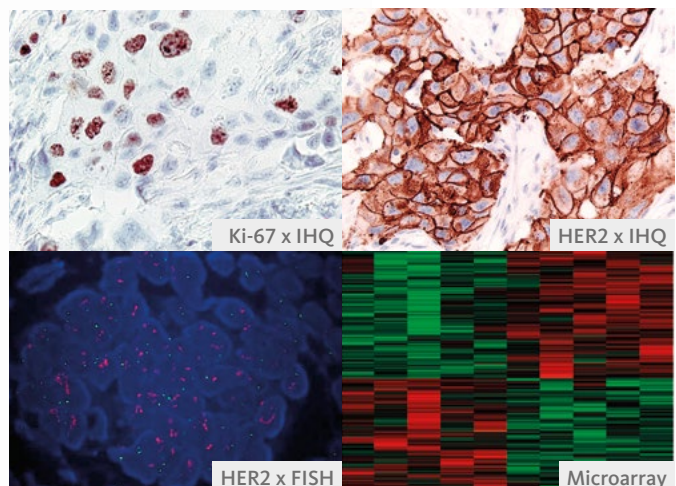
**Sociedad Española
de Senología y Patología Mamaria**

Factores pronósticos y predictivos en cáncer de mama

Una visión evolutiva de la
morfología a la genética

Comité de Publicaciones:
María Dolors Sabadell Mercadal
Màxim Izquierdo Sanz
Miguel Prats de Puig
Alfonso Modolell Roig

Introducción:
Prof. Ana Lluch Hernández



Edita: Fundación Española de Senología y Patología Mamaria

Diseño y maquetación: Estudio MAT1A5

Depósito Legal: V-2186-2017

ISBN: 978-84-697-5070-4

Prohibida la reproducción total o parcial de esta obra mediante cualquier recurso o procedimiento, comprendidos la impresión, la reprografía, el microfilm, el tratamiento informático o cualquier otro sistema, sin permiso escrito del editor.

Factores pronósticos y predictivos en cáncer de mama

Una visión evolutiva de la
morfología a la genética



Sociedad Española
de Senología y Patología Mamaria

*A todos aquellos que nos ayudan a mantener
encendida la llama de la Senología:*

Pacientes

Maestros

Compañeros

Miembros de la Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria

Presentación.

De nuevo el Comité de Publicaciones de la SESPM ha coordinado esta obra referida a los Factores Pronósticos y Predictivos en Cáncer de Mama.

Fue, por parte de ellos, una propuesta remitida a la Junta Directiva hace poco menos de un año y que inmediatamente se asumió, dado el interés que suscita un planteamiento de ese tipo, frente al mayor problema dentro de la Patología Mamaria, como es el cáncer.

Definido como un acontecimiento vital amenazante, el cáncer supone en la mujer una grave irrupción en la normalidad de su vida personal, familiar y social. Las preguntas por parte de la paciente acerca de qué me puede pasar y qué debo hacer con mis hijas, son habituales.

En este sentido, en esta publicación no sólo se pretende contestar a la primera pregunta, sino que también al abordar los aspectos predictivos se orienta en base al perfil biológico del tumor, acerca de qué tratamiento médico puede ser más eficaz.

A los datos pronósticos de orden clínico llamémosles tradicionales, se han unido las recientes descripciones de biomarcadores moleculares, algunos de los cuales están todavía en fase de ensayo clínico, y que nos van a permitir precisar más finamente la situación de la enfermedad tumoral. Un ejemplo es la medición del DNA o de las células tumorales circulantes.

Pero la aplicación clínica de esta metodología para los tratamientos farmacológicos es posible que a corto plazo, tenga también valor para diseñar el tratamiento locorregional, tanto quirúrgico como radioterápico, para incluso poder llegar a conocer qué tumores pueden no ser tributarios de tratamiento local.

El abanico de posibilidades que se está abriendo es muy amplio, y todo ello dirigido además de buscar la curación de la paciente, a evitar secuelas y complicaciones innecesarias. Ya se dan las condiciones para elaborar más precisamente el pronóstico y el tratamiento de forma individualizada.

Es obligado agradecer el esfuerzo realizado por los Dres. Modolell, Izquierdo, Sabadell y Prats de Puig para tener finalizada esta obra para ser entregada durante el 3er Congreso Español de la Mama, en octubre de 2017.

El reconocimiento se extiende a los 69 autores que han colaborado con sus aportaciones científicas del máximo interés y que, han volcado su prestigio en conseguir que en un tiempo récord, esta obra pueda ser presentada.

Nuestro agradecimiento también a todos los colaboradores que han participado en la edición de este libro.

Carlos Vázquez Albaladejo.

Presidente de SESPM

Past President SIS

Comité de Publicaciones

- Alfonso Modolell Roig
- Màxim Izquierdo Sanz

- Maria Dolors Sabadell Mercadal
- Miguel Prats de Puig

Autores

- **Adrover Cebrián, Encarna**
Complejo Hospital Universitario de Albacete. Albacete.
- **Alfaro Galán, Lina**
Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla.
- **Arumí de Dios, Miriam**
Hospital Universitari Vall d' Hebron. Barcelona.
- **Bellet Ezquerra, Meritxell**
Hospital Universitari Vall d' Hebron. Barcelona.
- **Bermejo de las Heras, Begoña**
Hospital Clínico Universitario de Valencia. Valencia.
- **Bernet Vegué, Laia**
Hospital Universitario de la Ribera. Alzira.
- **Cabezas Herrera, Juan**
Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia.
- **Cazorla Jiménez, Alicia**
H.U. Fundación Jiménez Díaz Quirón Salud. Madrid.
- **Chacón Aguilar, M^a Carmen**
Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla.
- **Checa Ruiz, Teresa**
Institut d' Oncologia Clínica, IDOC Centre Mèdic. Barcelona.
- **Cornejo Ladrero, José Ignacio**
H.U. Fundación Jiménez Díaz Quirón Salud. Madrid.
- **De Andrés Gómez, Alejandra**
Consortio Hospital General Universitario de Valencia. Valencia.
- **De la Orden de Frutos, Ángel**
Complejo Hospitalario Universitario de Vigo. Vigo.
- **De León Carrillo, José Manuel**
Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla.
- **Díaz Veiga, M^a Jesús**
Complejo Hospitalario Universitario de Vigo. Vigo.
- **Escrích Escriche, Eduard**
Facultat de Medicina. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona.
- **Escrivá de Romaní Muñoz, Santiago**
Hospital Universitari Vall d' Hebron. Barcelona.
- **Expósito Hernández, Jose**
Hospital Universitario de Granada. Granada.
- **Faez García, Laura**
Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo.
- **Fernández Abad, María**
Hospital Universitario Ramon y Cajal. Madrid.
- **Fernández Arrojo, Sara**
Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo.
- **Fernández Pérez, Yolanda**
Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo.
- **Fernández Venegas, María Ángeles**
Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla.
- **Ferrandis Salvador, Gemma**
Institut d' Oncologia Clínica, IDOC Centre Mèdic. Barcelona.
- **Fuster Diana, Carlos A.**
Consortio Hospital General Universitario de Valencia. Valencia.
- **Gálvez Montosa, Fernando**
Hospital Universitario de Granada. Granada.
- **García Puche, José Luis**
Centro Pfizer-Universidad de Granada-Junta de Andalucía de Genómica e Investigación Oncológica (GENYO). Granada.
- **García-Vilanova Comas, Andrés**
Consortio Hospital General Universitario de Valencia. Valencia.
- **Gayo Ramos, Javier**
Palex Medical. Barcelona.
- **Hardisson Hernández, David**
Hospital de la Paz. Madrid.
- **Isern Verdum, Josep**
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.
- **Izquierdo Sanz, Màxim**
Hospital Universitario Dexeus. Barcelona.
- **Legerén Álvarez, Marta**
Hospital Universitario de Granada. Granada.
- **Lorente Acosta, Jose A.**
Centro Pfizer-Universidad de Granada-Junta de Andalucía de Genómica e Investigación Oncológica (GENYO). Granada.

- **Luque Cabal, María**
Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo.
- **Lluch Hernández, Ana**
Hospital Clínico Universitario de Valencia. Valencia.
- **Marco Molina, Vicente**
Hospital Quironsalud Barcelona. Barcelona.
- **Martínez Lanao, M^a Ángeles**
Hospital Universitario Dexeus. Barcelona.
- **Martínez Martínez, Maria Teresa**
Hospital Clínico Universitario de Valencia. Valencia.
- **Modolell Roig, Alfonso**
Institut d' Oncologia Clínica, IDOC Centre Mèdic. Barcelona.
- **Moral Cabrera, Raquel**
Facultat de Medicina. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona.
- **Neptuno Rodríguez-López, José**
Universidad de Murcia. Murcia.
- **Palacio Vázquez, Isabel**
Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo.
- **Palacios Calvo, José**
Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.
- **Pascual Martínez, Tomás**
Hospital Clínic de Barcelona. Barcelona.
- **Peg Cámara, Vicente**
Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.
- **Peláez García, Alberto**
Hospital de la Paz. Madrid.
- **Pérez Mies, Belén**
Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.
- **Piñero Madrona, Antonio**
Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia.
- **Prat Aparicio, Aleix**
Hospital Clínic de Barcelona. Barcelona.
- **Prats de Puig, Miguel**
Centro de Diagnóstico de las Afecciones Mamarias. Barcelona.
- **Rezola Solaun, Ricardo**
Fundación Onkologikoa. San Sebastián.
- **Rodríguez Martínez, Alba**
Centro Pfizer-Universidad de Granada-Junta de Andalucía de Genómica e Investigación Oncológica (GENYO). Granada.
- **Rojo Todo, Federico**
H.U. Fundación Jiménez Díaz Quironsalud. Madrid.
- **Ruiz-Giménez Úbeda, Leticia**
Hospital de la Paz. Madrid.
- **Sabadell Mercadal, Maria Dolors**
Parc de Salut Mar. Hospital del Mar. Barcelona.
- **Sánchez Rovira, Pedro**
Centro Pfizer-Universidad de Granada-Junta de Andalucía de Genómica e Investigación Oncológica (GENYO). Granada.
- **Sanfeliu Torres, Esther**
Centro Médico Teknon-Quironsalud. Barcelona.
- **Serrano Fernández, M^a José**
Centro Pfizer-Universidad de Granada-Junta de Andalucía de Genómica e Investigación Oncológica (GENYO). Granada.
- **Soberino García, Jesús**
Instituto Oncológico Baselga. Barcelona.
- **Soler Monsó, M^a Teresa**
Institut Català d'Oncologia (ICO), Institut d' Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL). L' Hospitalet de Llobregat.
- **Solís Hernández, María del Pilar**
Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo.
- **Sousa Vaquero, José María**
Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla.
- **Trascasa Caño, Álvaro**
H.U. Fundación Jiménez Díaz Quironsalud. Madrid.
- **Tresserra Casas, Francesc**
Hospital Universitario Dexeus. Barcelona.
- **Urruticoechea Ribate, Ander**
Fundación Onkologikoa. San Sebastián.
- **Vázquez Albaladejo, Carlos**
Presidente de la SESPM. Valencia.
- **Vázquez de las Heras, Ivonne**
Parc de Salut Mar. Hospital del Mar. Barcelona.
- **Zamora Auñón, Pilar**
Hospital de la Paz. Madrid.

Prólogo.

El Comité de Publicaciones de la Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria (SESPM) está desarrollando el encargo efectuado por la Junta Directiva de la Sociedad, de elaborar unas guías clínicas actualizadas sobre el cáncer de mama. Ante la complejidad, diversidad y multidisciplinareidad del tema, nos dimos cuenta que respondía más a los criterios de un Manual que de una guía.

La primera edición del Manual de Práctica Clínica en Senología se presentó simultáneamente en castellano y en inglés en Valencia el año 2010, en el 29º Congreso de la SESPМ y el 16th World Congress of the Senologic International Society. La buena aceptación del Manual condujo a una segunda edición, revisada y ampliada, que se presentó el año 2012 en el 31º Congreso de la SESPМ, pasando de 36 a 46 capítulos. La tercera edición, de nuevo revisada y ampliada, fue presentada en el 2º Congreso de la Mama en Madrid el mes de octubre de 2015, con 64 capítulos y la participación de más de 150 especialistas de las diferentes ramas de la patología mamaria.

Se presenta la monografía “Factores pronósticos y predictivos en patología mamaria. Una visión evolutiva de la morfología a la genética”, que ha pretendido exponer de una forma clara, práctica y concisa la selección de los factores pronósticos y predictivos más involucrados en el tratamiento del cáncer de mama. La monografía consta de 24 capítulos, 2 anexos y la participación de 69 especialistas, la mayoría miembros de la SESPМ. Todos los colaboradores de esta obra han sido conscientes que han prestado un servicio altruista a la SESPМ, y esta ha sido su principal motivación. Muchos otros miembros de la Sociedad podrían haber participado, pero es imposible que todos estuviéramos representados. Tratándose de una Sociedad con tantos y tan buenos expertos en patología mamaria, pedimos, una vez más, vuestra indulgencia y críticas constructivas.

En ediciones anteriores, el Prof. Charles M. Perou y la Prof. Fattaneh A. Tavassoli han avalado estas publicaciones y efectuado una introducción. En la presente monografía hemos contado con el soporte de nuestra querida compañera, la Prof. Ana Lluch Hernández, que presenta la introducción, a la que trasladamos nuestra sincera estima por su excelente trayectoria profesional y cualidades humanas.

Agradecemos vivamente a la Junta Directiva y a su Presidente, el Dr. Carlos Vázquez Albaladejo, la confianza depositada en nosotros. Expresamos nuestro reconocimiento a los Dres. Carmen Ardiaca, Vicente Peg, Federico Rojo y Francesc Tresserra por su generosa aportación de material iconográfico. Esta monografía no habría sido posible sin el estímulo de la Sra. Ana Turanzo Jimenez, gerente de la Sociedad y de la Sra. Marta Machengs Esteve, secretaria de redacción, cuyo soporte logístico, dedicación y entusiasmo nos han acompañado en todo momento, así como el apoyo editorial del Estudio Matías. Su inestimable colaboración y labor coordinada en equipo ha permitido que esta obra sea presentada en el 3er Congreso de la Mama en Madrid el mes de octubre del 2017.

Comité de Publicaciones:

Dr. Alfonso Modolell Roig

Dra. Maria Dolors Sabadell Mercadal

Dr. Màxim Izquierdo Sanz

Dr. Miguel Prats de Puig

Secretaria de Redacción:

Sra. Marta Machengs Esteve

Índice

▶ Capítulo 114	▶ Capítulo 976
Consideraciones generales, definiciones y clasificación.	Afectación ganglionar. Valor de la carga tumoral total.
· Leticia Ruiz-Giménez Úbeda, Pilar Zamora Auñón.	· Laia Bernet Vegué, Vicente Peg Cámara, David Hardisson Hernández.
▶ Capítulo 220	▶ Capítulo 1080
Epigenética en cáncer de mama.	Inmunidad y cáncer de mama. Infiltración linfocitaria peritumoral (TILs).
· Raquel Moral Cabrera, Eduard Escrich Escriche.	· Alicia Cazorla Jiménez, Federico Rojo Todo, Álvaro Trascasa Caño.
▶ Capítulo 328	▶ Capítulo 1186
Estilo de vida y cáncer de mama.	Invasión vascular, linfática y perineural.
· José Manuel de León Carrillo, M ^a Carmen Chacón Aguilar, María Ángeles Fernández Venegas, José María Sousa Vaquero, Lina Alfaro Galán.	· Alicia Cazorla Jiménez, Federico Rojo Todo, José Ignacio Cornejo Ladrero.
▶ Capítulo 436	▶ Capítulo 1289
Edad, etnia y raza.	Receptores hormonales.
· Ángel de la Orden de Frutos, M ^a Jesús Díaz Veiga.	· Miriam Arumí de Dios, Santiago Escrivá de Romaní Muñoz, Meritxell Bellet Ezquerro.
▶ Capítulo 543	▶ Capítulo 13102
Estadio clínico. Relevancia de la clasificación TNM en la era de los biomarcadores y la medicina personalizada.	Oncogen HER2.
· Carlos A. Fuster Diana, Andrés García-Vilanova Comas, Alejandra de Andrés Gómez.	· Begoña Bermejo de las Heras, María Teresa Martínez Martínez, Ana Lluch Hernández.
▶ Capítulo 651	▶ Capítulo 14112
Tamaño tumoral.	Ki67
· Francesc Tresserra Casas, Ivonne Vázquez de las Heras.	· Màxim Izquierdo Sanz, Ricardo Rezola Solaun, Ander Urruticoechea Ribate.
▶ Capítulo 757	▶ Capítulo 15117
Clasificación histológica del cáncer de mama.	p53 y cáncer de mama.
· Esther Sanfeliu Torres, Vicente Marco Molina, Francesc Tresserra Casas.	· Laura Faez García, María Luque Cabal, María del Pilar Solís Hernández, Isabel Palacio Vázquez, Yolanda Fernández Pérez.
▶ Capítulo 870	▶ Capítulo 16121
Grado histológico.	Angiogénesis.
· M ^a Teresa Soler Monsó, M ^a Ángeles Martínez Lanao, Francesc Tresserra Casas.	· María del Pilar Solís Hernández, María Luque Cabal, Laura Faez García, Sara Fernández Arrojo, Yolanda Fernández Pérez.

▶ Capítulo 17	126	▶ Capítulo 24	175
Activador del plasminógeno tipo urokinasa (uPA) y su inhibidor tipo 1 (PAI-1) como factores pronósticos y predictivos en cáncer de mama.		Tratamiento neoadyuvante. Biomarcadores, valor pronóstico y predictivo de la respuesta patológica completa.	
· Antonio Piñero Madrona, José Neptuno Rodríguez-López, Juan Cabezas Herrera.		· Encarna Adrover Cebrián, Laia Bernet Vegué, Maria Dolors Sabadell Mercadal.	
▶ Capítulo 18	129	▶ Anexo I	183
DNA circulante tumoral.		Clasificación TNM AJCC 8ª Edición. 2017.	
· Tomás Pascual Martínez, Aleix Prat Aparicio.		· Maria Dolors Sabadell Mercadal, Gemma Ferrandis Salvador, Màxim Izquierdo Sanz, Miguel Prats de Puig, Alfonso Modolell Roig.	
▶ Capítulo 19	137	<i>Definición del tumor primario (T) – clínica y patológica.</i>	183
Células tumorales circulantes en sangre periférica. Biopsia líquida.		<i>Definición de ganglios linfáticos regionales– clínica (cN).</i>	184
· Mª José Serrano Fernández, Alba Rodríguez Martínez, José Luis García Puche, Jose Expósito Hernández, Jose A Lorente Acosta.		<i>Definición de ganglios linfáticos regionales – patológica (pN).</i>	185
▶ Capítulo 20	144	<i>Definición de metástasis a distancia (M).</i>	186
Micrometástasis medulares.		<i>Estadios anatómicos según AJCC.</i>	186
· Fernando Gálvez Montosa, Mª José Serrano Fernández, Marta Legerén Álvarez, José Luis García Puche, Pedro Sánchez Rovira.		<i>Estadio pronóstico AJCC - 1ª parte.</i>	187
▶ Capítulo 21	149	<i>Estadio pronóstico AJCC - 2ª parte.</i>	188
Clasificación molecular y genómica del cáncer de mama.		<i>Estadio pronóstico AJCC - 3ª parte.</i>	189
· Teresa Checa Ruiz, Gemma Ferrandis Salvador.		<i>Estadio pronóstico AJCC - 4ª parte.</i>	190
▶ Capítulo 22	154	<i>Grado histológico (GH).</i>	191
Implicaciones pronósticas y terapéuticas de la clasificación molecular del cáncer de mama.		<i>Caracterización de la respuesta al tratamiento neoadyuvante.</i>	191
· María Fernández Abad, Belén Pérez Mies, José Palacios Calvo.		▶ Anexo II	192
▶ Capítulo 23	161	15th St. Gallen International Breast Cancer Conference 2017.	
Firmas genéticas.		· Màxim Izquierdo Sanz, Maria Dolors Sabadell Mercadal, Miguel Prats de Puig, Alfonso Modolell Roig.	
· Josep Isern Verdum.		<i>Investigación de hallazgos recientes e implicaciones clínicas.</i>	199
1. Test MammaPrint®	162	<i>Recomendaciones para el tratamiento loco-regional</i>	201
· Jesús Soberino García		<i>Definición de los subtipos tumorales</i>	202
2. Test OncotypeDx®	164	<i>Recomendaciones para el tratamiento neoadyuvante en cáncer de mama inicial con RE positivo/HER2 negativo.</i>	203
· Javier Gayo Ramos.		<i>Recomendaciones para el tratamiento adyuvante en cáncer de mama inicial triple negativo y HER2 positivo</i>	204
3. Test EndoPredict®	169	<i>Factores que afectan la indicación de quimioterapia en pacientes con enfermedad RE positivo, HER2 negativo.</i>	205
· Alberto Peláez García, David Hardisson Hernáez.			
4. Test PAM50/PROSIGNA®	172		
· Aleix Prat Aparicio.			

Introducción.

El presente libro nace del esfuerzo y la dedicación de un grupo de profesionales que ha asumido el reto de presentar todos aquellos factores pronósticos, predictivos y genéticos que deben ser conocidos para el correcto abordaje del cáncer de mama.

La Oncología, y en concreto el estudio, diagnóstico y tratamiento del cáncer de mama, es una disciplina en auge con una amplia perspectiva profesional, que se extiende desde la investigación traslacional hasta el quehacer cotidiano de la asistencia clínica. En los últimos años estamos asistiendo a un aumento en la incidencia por cáncer. Más concretamente, entre las mujeres de nuestro país, el cáncer de mama sigue siendo la primera causa en incidencia y mortalidad. Por todo ello debemos aunar todos nuestros esfuerzos en aumentar nuestros conocimientos acerca de esta patología.

Es también importante mencionar que, en la actualidad, estamos asistiendo a un cambio revolucionario en el modo de entender la patología oncológica, y en concreto la patología mamaria. Este cambio ha sido propiciado por el auge de las nuevas tecnologías, que nos han permitido conocer más profundamente las vías genéticas implicadas en el desarrollo y crecimiento de las células tumorales.

El auge de esta disciplina médica se ha visto corroborado por la aparición de numerosas publicaciones científicas, debiendo cada una de estas proporcionar nuevos conocimientos a los distintos profesionales implicados en la investigación, diagnóstico y tratamiento del cáncer de mama. Este libro, conformado por 26 capítulos, cuenta entre sus objetivos fundamentales la exposición y el análisis de aspectos novedosos. Entre estos podríamos destacar el estudio exhaustivo de cada uno de los factores pronósticos y predictivos relacionados con el cáncer de mama, que nos pueden ayudar a seleccionar a aquellas pacientes que se beneficiarían de un tratamiento adyuvante, así como a identificar el mejor tratamiento para una paciente concreta. Aunque el pronóstico y el manejo del cáncer de mama han estado siempre influenciados por variables clásicas como el tipo histológico, grado histológico, tamaño tumoral, afectación ganglionar y el estado de los receptores de estrógeno (RE), receptores de progesterona (RP) y la expresión de la proteína HER2, una de las barreras que nos encontramos cuando nos enfrentamos al cáncer de mama es su heterogeneidad clínica y genética. En los últimos años estamos asistiendo a una nueva forma de diferenciar a las pacientes en función de su pronóstico y de la diferente respuesta a la quimioterapia, gracias a los biomarcadores moleculares y a la identificación de firmas genéticas de expresión que predicen el pronóstico del cáncer de mama en función de los genes activados en el tumor. Los análisis de expresión génica nos ayudan a identificar distintas firmas moleculares en cáncer de mama con diferentes pronósticos. Los perfiles de expresión génica han tenido un gran impacto para el conocimiento de la biología del cáncer de mama y más recientemente en la asistencia clínica. Este es otro aspecto novedoso que se trata en esta monografía, en el que se revisan también de forma exhaustiva todos los nuevos conocimientos adquiridos gracias a la investigación traslacional y básica.

No pueden faltar en estas líneas la expresión de mi más sincera gratitud, no sólo a los que recibirán y disfrutarán de esta publicación, sino a todos los que lo han hecho posible: los Autores, el Comité de Publicaciones de la Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria (SESPM) y la Junta Directiva de la Sociedad, que han conseguido que esta obra se convierta en una herramienta clínica y docente, que sea una fuente de estímulo para estudiantes y médicos internos-residentes y a hacer más eficiente la tarea de cada día, aportando otro grano de arena en el terreno inagotable de la patología mamaria.

Dra. Ana Lluch Hernández, M.D; PhD

Catedrática de Medicina. Universitat de Valencia

Jefa del Servicio de Hematología y Oncología Médica del Hospital Clínico de Valencia

► Capítulo 1

Consideraciones generales, definiciones y clasificación.

Leticia Ruiz-Giménez Úbeda, Pilar Zamora Auñón.

1. Consideraciones generales.

Como se menciona en la introducción del libro **“Factores pronósticos en cáncer”** publicado por la UICC en 1995, a menudo prestamos mayor atención a los avances terapéuticos que a la valoración pronóstica, cuando esta última muchas veces tiene mayor impacto en la supervivencia del paciente que los nuevos tratamientos¹.

La medicina moderna da mucha importancia al diagnóstico y al tratamiento y mucho menos al pronóstico que ha sido el eje central de la medicina clásica. A pesar de ello, en muchas ocasiones el prestigio, la eficacia y la competencia del médico vienen determinados por su capacidad de acertar en el pronóstico del paciente, siendo esta una de las labores más comprometidas a la que nos enfrentamos en el día a día de nuestra práctica médica habitual.

Hoy en día en oncología, el conocimiento de los factores pronósticos y predictivos sirve para estimar la supervivencia del paciente, las posibilidades de recaída y de respuesta al tratamiento. Todo ello nos ayudará en la elección del mejor tratamiento para cada enfermo, evitando de esta manera tanto el sobre como el infratratamiento.

Por otra parte, actualmente, la adecuada valoración pronóstica es imprescindible en el campo de la investigación clínica para el correcto diseño y desarrollo de ensayos clínicos.

En el terreno de la salud pública la estimación del pronóstico de los tumores detectados mediante cribado es importante para decidir la implantación de dicho método, en caso de que este mejore el pronóstico final de los pacientes diagnosticados precozmente. Conocer el pronóstico de los pacientes diagnosticados de cierta enfermedad en una determinada población es necesario también para la adecuada disposición de recursos sanitarios².

El conocimiento del pronóstico del paciente es pues importante en muchos aspectos de la medicina. A los profesionales sanitarios nos permite seleccionar los tratamientos tanto a nivel asistencial, como en la investigación clínica de calidad, dado que es esencial llevar a cabo una adecuada selección de pacientes en función de su pronóstico. Además en la salud pública nos permite ajustar los presupuestos a las necesidades sanitarias de la población. Al paciente y a la familia les ayuda también esta información, pues dicho conocimiento les permite establecer un plan de vida adaptado a la nueva realidad vital.

En el estudio pronóstico es muy importante una práctica clínica de calidad. Al fin y al cabo, estudiar los factores pronósticos de supervivencia, respuesta al tratamiento, recaídas y complicaciones, supone acercarnos a una medicina individualizada y de precisión³.

2. Definiciones.

La historia natural de los pacientes neoplásicos es muy variable. Las pacientes con cáncer de mama pueden tener supervivencias muy dispares debido tanto a la heterogeneidad de la enfermedad, como al estadio en el momento del diagnóstico, a los diferentes tratamientos y a las distintas condiciones basales de las mujeres afectadas. El médico que atiende a estas mujeres debe realizar desde el diagnóstico una adecuada valoración del pronóstico y recomendar el tratamiento más adecuado en función de una serie de factores con valor pronóstico y/o predictivo. Los datos que nos ayudan a establecer un pronóstico se denominan **“factores pronósticos”** y aquellos que nos ayudan a seleccionar un tratamiento específico se denominan **“factores predictivos de respuesta”**. Con frecuencia algunos factores pronósticos lo son también predictivos. Así, la positividad del HER2 es un factor pronóstico ya que este biomarcador indica la presencia de una enfermedad agresiva, pero además es el factor predictivo más importante de respuesta al tratamiento anti-HER2.

► Pronóstico.

Se define como una indicación del riesgo futuro de que ocurra un suceso o evento (recaída local, metástasis o muerte) independientemente del efecto de un tratamiento previo o posterior.

► Predicción.

Se define como la capacidad de un factor/biomarcador que indica la probabilidad de beneficio con un tratamiento específico o una clase de fármaco (hormonal, biológico o quimioterapia)^{4,5}.

► Factor pronóstico.

Es toda aquella característica de la paciente (edad, hábitos, comorbilidades, etc.), del tumor (fenotipo tumoral, perfil genético, Ki67, etc.) que se relaciona con la supervivencia global o con cualquier otro resultado intermedio (supervivencia libre de progresión, tiempo hasta la progresión, tasa de respuestas, etc.).

► Factor predictivo.

Es toda aquella característica de la paciente, del tumor o del propio tratamiento que se relaciona con las probabilidades de respuesta al mismo.

Es importante diferenciar entre factor pronóstico y factor predictivo para separar aquellos pacientes que se van a beneficiar del tratamiento, de aquellos en los que la exposición a ciertos fármacos y el uso de nuevas terapias no solo no van a ser capaces de mejorar el pronóstico, la calidad de vida ni la supervivencia, sino que incluso es posible que les aporten toxicidad.

► Los factores pronósticos.

Aportan información sobre resultados clínicos, están presentes desde el momento del diagnóstico y son independientes de la terapia administrada, por tanto, son capaces de suministrar información sobre la evolución que puede experimentar un paciente determinado.

Los factores predictivos hacen referencia a datos o características clínicas que ayudan a la personalización del tratamiento.

En resumen, los **factores pronósticos** definen los efectos de las características del paciente o del tumor en los resultados clínicos del individuo y responderían a la pregunta ¿debemos tratar o no al paciente?, mientras que los **factores predictivos** definen los efectos del tratamiento sobre el tumor y responderían a la pregunta: ¿Cómo o con qué lo tenemos que tratar? Idealmente, un factor predictivo sería una diana terapéutica, como los receptores hormonales o el HER2.

Un factor pronóstico para considerarse útil en el estudio del paciente oncológico debe cumplir una serie de requisitos:

- Aportar valor pronóstico independiente, significativo y validado mediante estudios clínicos bien diseñados.
- Determinación factible, reproducible, ampliamente disponible y que supere los controles de calidad requeridos en cada caso particular.
- El resultado debe ser fácilmente interpretable por el clínico.

La integración de la información proporcionada por los factores pronósticos más relevantes en ocasiones puede agruparse constituyendo un índice o sistema pronóstico que a modo de calculadora nos ayuda a establecer un pronóstico, como por ejemplo el sistema **TNM**⁶ basado en el tamaño tumoral, ganglios linfáticos afectados y metástasis a distancia, el “**Nottingham Prognostic Index**” NPI⁷ que es un conjunto de datos histopatológicos integrados en una fórmula pronóstica, el **Adjuvant Online**⁸ que es una herramienta informática online que tras suministrarle unos datos basales de la paciente y el tumor nos informa de la supervivencia global y el beneficio esperado en función del tratamiento elegido. Existen otras herramientas similares online que pueden aportar información parecida como **Predict tool 2.0** que puede consultarse en:

☞ <http://www.predict.nhs.uk/predict.html>

Más recientemente, gracias al crecimiento explosivo de la biología molecular y al desarrollo del conocimiento del genoma humano en los últimos años, los biomarcadores se han introducido rápidamente en el campo de la evaluación pronóstica y predictiva en oncología.

Denominamos **biomarcador** a cualquier característica biológica del paciente o del tumor que se relaciona con una situación particular de la enfermedad o bien con la posibilidad de respuesta a un tratamiento. Así pues, hay también biomarcadores diagnósticos, pronósticos y predictivos. En muchas ocasiones utilizamos ambos términos: factor pronóstico/biomarcador como intercambiables. En cierto sentido el término factor pronóstico es más amplio ya que incluye datos relativos al paciente como edad,

sexo, raza, comorbilidades, etc. que no serían estrictamente biomarcadores, mientras que para los factores pronósticos derivados del tumor (receptores hormonales, HER2, perfiles génicos, etc.) o los datos moleculares del paciente (BRCA), o del tumor (mutaciones, perfiles epigenéticos, PD1, etc.) podríamos utilizar cualquiera de los dos términos **Tabla 1.I**.

► Factores pronósticos	
• Dependientes del paciente	Edad
	Estado general
	Comorbilidades
	Hábitos: tabaco, ejercicio, etc.
• Dependientes del tumor	TNM
	Receptores hormonales
	HER2
	Ki67
	Subtipos moleculares
	Perfiles génicos
► Factores predictivos	
• Algunos perfiles génicos: OncotypeDx®	
• Receptores hormonales	
• HER2	
• Mutaciones en BRCA 1/2	
• Mutaciones en ESR1	
► Nuevos biomarcadores	
• Células tumorales circulantes	
• ADNtc	
• Mutaciones en BRCA 1/2	
• Mutaciones en ESR1	
• Mutaciones en PI3K	
• Otras mutaciones	
• Perfiles proteómicos, metabolómicos, mutacionales, epigenéticos, etc.	

Tabla 1.I. Algunos factores pronósticos, predictivos y nuevos biomarcadores en cáncer de mama

Todo biomarcador debe pasar por tres fases de desarrollo e investigación para considerarse clínicamente útil⁵:

► **Validez analítica:**

Hace referencia a la reproducibilidad del mismo entre distintos métodos de detección y en diferentes entornos. Así pues, todo biomarcador útil ha de cumplir unos estándares mínimos de precisión, reproductibilidad y fiabilidad.

► **Validez clínica:**

Capacidad de un factor de diferenciar la población a estudio en dos o más grupos que difieren en resultados biológicos, clínicos o de respuesta a tratamientos.

► **Utilidad clínica:**

Implica el aprovechamiento concreto del factor para el cuidado del paciente, es decir, debe ser útil para la toma de decisiones en el tratamiento de pacientes concretos.

La utilidad de la información pronóstica se extiende sobre diversas áreas de la oncología **Tabla 1.II** Véase pág. 17, pero se pueden destacar varios momentos de la enfermedad tumoral en los que adquieren más importancia:

• **Información al paciente y a la familia a lo largo de toda la enfermedad:**

Hoy en día el diagnóstico de cáncer sigue siendo muy traumático y supone un antes y un después en la vida de la mayoría de los individuos afectados, aunque finalmente superen la enfermedad. Así pues, la identificación de los factores pronósticos que afectan a cada paciente oncológico, nos permite informarle a él y a su familia sobre la posible evolución, permitiendo al paciente y a su entorno más cercano establecer un plan de vida adaptado a su nueva situación y facilitando la toma de decisiones más adecuadas para su tratamiento.

• **Planificación del tratamiento:**

Los factores pronósticos y predictivos nos ayudarán a diseñar un plan terapéutico adaptado a cada paciente y a cada situación particular consiguiendo con ello evitar sobre o infra tratamientos. Permiten a los profesionales sanitarios informar al paciente de la posible evolución de la enfermedad, de los diferentes tratamientos posibles, de sus resultados, así como de las esperables toxicidades y costes de los mismos. Por parte del paciente facilitan la toma de decisiones acerca del tratamiento más conveniente y adaptado a sus necesidades y posibilidades.

A los médicos, el conocimiento de los factores pronósticos y/o predictivos, les ayudará también en otras áreas como la investigación clínica y la salud pública:

• **Diseño e interpretación de ensayos clínicos:**

Para evitar los sesgos de selección que pueden falsear el análisis de los datos obtenidos en la investigación clínica, es fundamental a la hora de planificar un ensayo distribuir o estratificar a los pacientes en grupos homogéneos en función de los factores pronósticos conocidos, o bien seleccionar poblaciones con características y enfermedades similares, sino se correría el riesgo de interpretar como efectos atribuibles al tratamiento en estudio lo que no serían más que diferencias en los factores pronósticos basales.

• **Diseño y evaluación de estudios de salud pública:**

Es importante conocer en ciertos estudios poblacionales de diagnóstico precoz, el pronóstico de los tumores detectados, para decidir si las medidas de cribado son coste-efectivas o, por el contrario, no mejoran el pronóstico de los pacientes diagnosticados mediante estos programas. También es importante conocer en cuantos pacientes y en que estadios se diagnostican un determinado tipo de cáncer en una población concreta, con el fin de asignar los recursos públicos necesarios para su correcta atención sanitaria.

▸ Uso en práctica clínica
• Conocer el comportamiento de la enfermedad.
• Conocer la evolución de un paciente concreto.
• Indicar tratamientos.
• Explicar variaciones en el curso clínico de diferentes pacientes.
• Informar al paciente y a la familia.
▸ Uso en ensayos clínicos
• Definir tamaños muestrales en el diseño de ensayos clínicos.
• Estratificar a los pacientes para evitar desequilibrios entre los grupos de tratamiento en ensayos aleatorizados.
• Comparar resultados en función de distintos factores para generar nuevas hipótesis.
• Analizar diferentes resultados en función de diferentes factores.
• Caracterización de nuevos factores pronósticos.
▸ Uso en salud pública
• Asignación de recursos en función de la enfermedad y pronóstico esperado.
• Implantación de programas de cribado según la presentación y mejoría en el pronóstico de los tumores detectados.

Tabla 1.II. Potencial utilidad de los factores pronósticos

3. Clasificación de los factores pronósticos y predictivos.

Existen numerosos factores pronósticos y biomarcadores conocidos, muchos en estudio y otros muchos sin identificar todavía. Actualmente no se dispone de una clasificación de factores pronósticos que pueda ser utilizada universalmente.

Algunos factores pronósticos están relacionados con las características propias del paciente, otras son propias del tumor y en ciertas ocasiones se asocian al entorno o circunstancias sociales del enfermo o del tratamiento administrado.

Además, desde la última década del siglo XX, las nuevas técnicas de biología molecular han comenzado a introducir una inmensa cantidad de factores moleculares/biomarcadores, relacionados tanto con el paciente como con la enfermedad en sí que en su mayoría están todavía en evaluación.

Podemos clasificar los factores pronósticos desde distintos puntos de vista.

La división fundamental en el estudio de factores pronósticos en cáncer de mama viene determinada por el tipo de enfermedad en el diagnóstico inicial: loco-regional vs enfermedad a distancia. La razón de esta división radica en que el cáncer de mama en estadio localizado es una enfermedad curable mientras que no lo es, a día de hoy, el cáncer de mama diseminado o metastásico. Por ello, esta primera división ya tiene un potentísimo valor pronóstico con importantes implicaciones para el objetivo del tratamiento en cada caso: curativo en el primero y paliativo en el segundo.

Así, habrá unos factores pronósticos diferentes para la enfermedad precoz y para la enfermedad diseminada.

En la enfermedad localizada la determinación de los factores pronósticos es muy importante, puesto que nos indicaran quienes son las pacientes que necesitarán tratamiento adyuvante en función del riesgo de recaída. Cuanto más podamos afinar en el pronóstico mejor ajustaremos el tratamiento, evitando sobre tratamientos en las pacientes que no van a recaer.

Los factores pronósticos de la enfermedad local de forma general y desde un punto de vista práctico podemos dividirlos a su vez en:

► **Relacionados con el paciente:**

Son aquellos que se relacionan con las características de la persona que padece la enfermedad: edad, sexo, antecedentes, comorbilidades, estado general, etc. Son factores fundamentalmente clínicos.

► **Relacionados con la neoplasia:**

Son aquellos que dependen de las características de la biología del tumor. En el cáncer de mama pueden ser la histología, los receptores hormonales, HER2, tamaño tumoral, grado histológico, grado nuclear, invasión linfovascular, Ki67, afectación ganglionar axilar, rotura capsular e invasión de la grasa peri ganglionar, subtipo histológico, perfiles génicos, etc⁹.

► **Relacionados con el tratamiento:**

Son factores pronósticos muy importantes, ya que obviamente la evolución de muchos cánceres dependerá del tratamiento realizado sea este cirugía, radioterapia, quimioterapia, hormonoterapia o nuevas terapias anti-diana.

► **Relacionados con el entorno:**

Hacen referencia a las posibilidades de recibir distintos tratamientos por parte de las pacientes debido a su entorno social, nivel cultural, económico y zona geográfica. Así, la supervivencia de las mujeres afectas por esta enfermedad va a depender de forma muy directa de la zona geográfica en donde viven y las condiciones sanitarias de la misma.

► **Factores moleculares predictivos de comportamiento neoplásico o de respuesta a la quimioterapia:**

En este grupo se engloban la mayoría de los llamados biomarcadores, algunos de los cuales todavía no están validados para la toma de decisiones terapéuticas. Entre ellos podríamos mencionar, en el cáncer de mama, los perfiles moleculares, los subtipos moleculares, los marcadores de riesgo genético, como BRCA1 y BRCA2, las células tumorales circulantes, el ADNtc, algunas

mutaciones en genes relacionados con el cáncer de mama como PI3K, ESR1, etc. La mayoría de estos factores están en estudio y no tienen una utilidad clínica definida. No obstante, existen algunas guías clínicas para su uso en cáncer de mama¹⁰.

El cáncer de mama diseminado es una enfermedad incurable a día de hoy, sin embargo, la supervivencia es muy diferente de unas enfermas a otras, oscilando entre unos pocos meses y varios años.

Los factores pronósticos en esta situación son también importantes por cuanto nos ayudan a tratar mejor a las pacientes en función de sus deseos y posibilidades de supervivencia y de respuesta a distintos tratamientos.

► **Receptores hormonales y HER2:**

Las principales decisiones de tratamiento en cáncer de mama dependen de estos biomarcadores. El problema es que algunos tumores cambian su expresión de receptores y/o HER2 entre el tumor inicial y la enfermedad metastásica, por lo que se recomienda la realización de una biopsia de alguna de las metástasis, siempre que sea posible en el momento del diagnóstico de la enfermedad diseminada¹¹. En caso de cambios en la expresión de estos biomarcadores la decisión de tratamiento debería ajustarse, de forma general, a la determinación más reciente.

► **Localización de las metástasis:**

Es uno de los factores pronósticos más importantes. La presencia de múltiples lesiones metastásicas viscerales implica una reducción de la supervivencia frente a las pacientes con metástasis óseas o ganglionares¹². La carga tumoral es otro factor pronóstico conocido y parece obvio que a mayor carga de enfermedad peor pronóstico.

Otros factores que se han identificado de valor pronóstico en enfermedad diseminada son el tipo de tumor o subtipo molecular, siendo los de peor pronóstico los tumores triples negativos, entre ellos los basales¹³.

La edad de las pacientes es un factor de importancia¹² ya que las pacientes más mayores es posible que no puedan tolerar determinados tratamientos.

Este grupo de pacientes suelen tener más comorbilidades, de forma que pueden experimentar mayor toxicidad con los tratamientos.

Otras posibles clasificaciones de los factores pronósticos/predictivos se basan en otras características como el subtipo del tumor. Así, los factores pronósticos/predictivos diferirán entre las pacientes con cánceres luminales, cánceres HER2 + y tumores triple negativos (basales).

Take-Home messages: Ideas a retener.

- Los factores pronósticos son aquellos datos que nos permiten estimar las posibilidades de supervivencia a largo plazo de los pacientes sin tratamiento y los factores predictivos nos permiten seleccionar un tratamiento especial para cada paciente.
- Hay diferentes clasificaciones de factores pronósticos en función del tipo de enfermedad loco-regional versus diseminada, dependientes del paciente, del tumor y del tratamiento.
- En los últimos años también se han empezado a utilizar biomarcadores, en su mayoría moleculares (genómicos, proteómicos, etc.) del paciente o del tumor, que nos informan de una situación biológica especial o de la posibilidad de respuesta a un tratamiento.
- La identificación de factores pronósticos, predictivos y nuevos biomarcadores en cáncer de mama está permitiendo aplicar tratamientos cada vez más ajustados a cada perfil de pacientes, lo que hará, en definitiva, que sean tratamientos más eficaces y menos tóxicos.

📖 Bibliografía:

1. Hermanek P, International Union against Cancer. Prognostic factors in cancer. Berlin; New York: Springer; 1995. xvi, 290 p. p.
2. Gospodarowicz M, O'Sullivan B. Prognostic factors in cancer. *Semin Surg Oncol.* 2003;21(1):13-8.
3. González Barón M. Factores pronósticos en Oncología Médica. En: M. González Barón EE, E. Casado, J. Feliu, J. de Castro, A. Ordoñez, P. Zamora, J de la Garza, editor. *Factores Pronósticos en Oncología.* Madrid: McGraw-Hill. Interamericana; 2005. p. 1-7.
4. Harris L, Fritsche H, Mennel R, et al. American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J Clin Oncol.* 2007;25(33):5287-312.
5. Harris LN, Ismaila N, McShane LM, et al. Use of Biomarkers to Guide Decisions on Adjuvant Systemic Therapy for Women With Early-Stage Invasive Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol.* 2016;34(10):1134-50.
6. Edge SB, Compton CC. American Joint Committee on Cancer. *AJCC cancer staging manual.* 7th ed. New York: Springer; 2010. xiv, 648 p. p.
7. Galea MH, Blamey RW, Elston CE, et al. The Nottingham Prognostic Index in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 1992;22(3):207-19.
8. Hajage D, de Rycke Y, Bollet M, et al. External validation of Adjuvant! Online breast cancer prognosis tool. Prioritising recommendations for improvement. *PLoS One.* 2011;6(11):e27446.
9. Almagro E, Gonzalez CS, Espinosa E. Factores pronósticos en cáncer de mama precoz. *Med Clin (Barc).* 2016;146(4):167-71.
10. Duffy MJ, Harbeck N, Nap M, et al. Clinical use of biomarkers in breast cancer: Updated guidelines from the European Group on Tumor Markers (EGTM). *Eur J Cancer.* 2017;75:284-98.
11. Van Poznak C, Somerfield MR, Bast RC, et al. Use of Biomarkers to Guide Decisions on Systemic Therapy for Women With Metastatic Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol.* 2015;33(24):2695-704.
12. Largillier R, Ferrero JM, Doyen J, et al. Prognostic factors in 1,038 women with metastatic breast cancer. *Ann Oncol.* 2008;19(12):2012-9.
13. Marshall EM, Bertaut A, Desmoulin I, et al. Prognostic Factors of Survival among Women with Metastatic Breast Cancer and Impact of Primary or Secondary Nature of Disease on Survival: A French Population-Based Study. *Breast J.* 2017;23(2):138-45.

▶ Capítulo 2

Epigenética en cáncer de mama.

Raquel Moral Cabrera, Eduard Escrich Escriche.

1. Introducción.

La carcinogénesis es un proceso altamente complejo que resulta de la acumulación de alteraciones en la función de diversos genes, fundamentalmente inactivación de genes supresores y activación de protooncogenes¹. Estas alteraciones pueden ser genéticas, es decir, modificaciones en la secuencia del gen, o epigenéticas. El término **epigenética hace referencia a las modificaciones heredables de la función de los genes que se producen sin alterar su secuencia de nucleótidos**. Estas modificaciones son marcas químicas en el mismo ADN y en las proteínas que regulan su estructura, conformando un código que regula la expresión génica y la estabilidad de la cromatina y que, en su conjunto, reciben el nombre de epigenoma. Forman parte de estos mecanismos reguladores **la metilación del ADN, la modificación de histonas y la actividad de otras proteínas remodeladoras de la cromatina**. Además, suele también considerarse la expresión de ARN no codificante (ncRNA) como mecanismo epigenético adicional que interfiere la expresión génica y que además interacciona con el resto de maquinaria epigenética **(Fig. 2.1)**. La disrupción de todos estos procesos está fuertemente relacionada con la iniciación, promoción y progresión del cáncer^{2,3}.

Los mecanismos epigenéticos pueden explicar las diferencias de fenotipo en dos genotipos idénticos y con los mismos factores ambientales. Un ejemplo de ello sería la diferente penetrancia de algunas enfermedades con componente genético, como en el caso de hermanas gemelas monocigóticas con la misma alteración heredada por línea germinal del gen BRCA1 pero con muy diferente manifestación clínica de cáncer de mama². Por otro lado la epigenética también podría explicar, al menos en parte, la participación de factores ambientales, como por ejemplo la dieta, en la carcinogénesis. En este sentido, existen evidencias de que numerosos compuestos dietéticos considerados beneficiosos en cáncer pueden interactuar con la maquinaria epigenética^{4,5}.

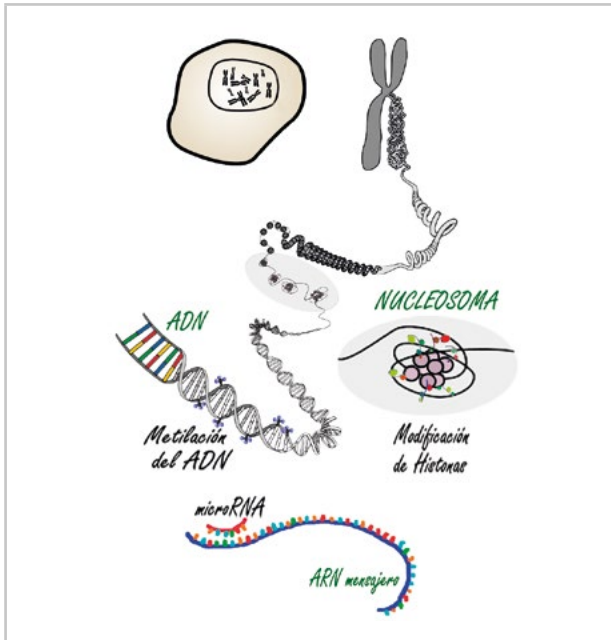


Figura 2.1. Organización de la cromatina y principales mecanismos epigenéticos de control de expresión génica.

2. Metilación del ADN.

La metilación de ADN consiste en la unión covalente de un grupo metilo en determinadas citosinas. En humanos las citosinas susceptibles a sufrir esta modificación son las que preceden a un nucleótido de guanina, y que conforman lo que se denomina dinucleótido CpG (“Cytosine-phosphate-Guanine”). Los dinucleótidos CpG no están distribuidos aleatoriamente en el genoma, si no que se concentran en regiones denominadas islas CpG, localizadas en promotores génicos y en regiones que contienen largas secuencias de ADN repetitivo, como los centrómeros o los retrotransposones. También se produce metilación en regiones próximas a las islas CpG pero con baja densidad de estos dinucleótidos (“CpG island shores”) así como en el cuerpo de los genes (regiones codificantes e intrones). Este mecanismo epigenético induce el silenciamiento génico de dos formas: directamente, al impedir la unión de factores de transcripción, e indirectamente, induciendo una estructura compactada de la cromatina. En las regiones repetitivas la mayoría de los dinucleótidos CpG se encuentran metilados, lo cual previene la inestabilidad cromosómica, mientras que las islas CpG de los genes transcripcionalmente activos se encuentran desmetiladas^{2,3,6}.

La metilación del ADN está catalizada por la familia de enzimas DNMT (ADN metiltransferasas). La isoforma 1 es la denominada “de mantenimiento”, y durante la replicación del ADN copia el patrón de metilación en la nueva cadena sintetizada. Las isoformas 3a y 3b, denominadas “de novo”, son las responsables del establecimiento de los patrones de metilación durante el desarrollo embrionario, aunque existen datos de que también participan en la metilación de mantenimiento. Asimismo, la metilación es un proceso reversible. Por un lado, existen mecanismos pasivos que implicarían la pérdida de metilación durante la replicación del ADN por inhibición de la acción de DNMT1 sobre la cadena hemimetilada. Por otro lado, la desmetilación también puede ser un proceso activo, estando en este caso involucrados los miembros de la familia TET (Ten Eleven Translocation). Estas proteínas oxidan el residuo 5-metil-citosina (5mC) convirtiéndolo en 5-hidroxi-metil-citosina (5hmC), que tras diversas modificaciones y con la participación final del sistema de reparación por escisión de bases, resulta en una citosina desmetilada. Se han descrito otros mecanismos de desmetilación activa que incluirían la participación de las distintas isoformas de DNMT o de diferentes sistemas de reparación del ADN^{2,3}.

3. Modificación de histonas.

La unidad básica de la cromatina, tanto de la eucromatina (transcripcionalmente activa) como de la heterocromatina (altamente condensada y silenciada), es el nucleosoma. En el nucleosoma el ADN se pliega sobre un octámero de histonas, las cuales distan mucho de ser meramente proteínas estructurales si no que tienen un papel clave en la regulación de funciones básicas como el plegamiento del material genético, la reparación del ADN o la replicación. Las histonas pueden sufrir modificaciones en determinados residuos de sus colas aminoterminales, y que, además de repercutir directamente en la conformación de la cromatina, reclutan diferentes tipos de proteínas reguladoras. La naturaleza de estas modificaciones es amplia, siendo las más conocidas la metilación y la acetilación, entre muchas otras (fosforilación, sumoilación, ubiquitinación...). El conjunto de todas estas modificaciones crea lo que se denomina un código de histonas y contribuye a que una región genómica se comporte como eucromatina o heterocromatina.

En general, la acetilación de histonas se relaciona con la cromatina transcripcionalmente activa, ya que los residuos acetilos neutralizan la carga positiva de las histonas y se favorece el desplegamiento nucleosomal. Por su parte, la metilación de histonas ha sido asociada tanto con la transcripción como con el silenciamiento génico, en función de los residuos metilados. Todas estas modificaciones son producidas por diferentes familias de enzimas tales como las histonas acetiltransferasas (HAT), deacetilasas (HDAC), metiltransferasas (HMT) o desmetilasas (HDMT)^{2,3,7}.

4. Micro RNA.

Existe una amplia variedad de moléculas de ARN que no codifican proteínas y que tienen un papel clave en numerosos procesos celulares. Este ARN no codificante (ncRNA) incluye moléculas bien conocidas, como el ARN ribosómico o de transferencia, y otra serie de moléculas que se han revelado en los últimos años como importes reguladoras del transcriptoma. Dentro de estos últimos ncRNA destacarían los microRNA (o miRNA), pequeñas secuencias de aproximadamente 22 nucleótidos que regulan negativamente la expresión de los genes a nivel post-transcripcional. La biosíntesis de microRNA es un proceso complejo y altamente regulado que incluye su expresión, transporte al citoplasma y procesamiento en varios pasos. Los microRNA maduros se unen por complementariedad con ARN mensajeros específicos provocando la inhibición de su traducción a proteína y/o su degradación. Se considera que la mayoría (80%) de ARN mensajeros pueden ser diana de microRNAs^{3,8}. Además, dado de que un mismo microRNA puede bloquear distintos ARN mensajeros, se les considera importantes reguladores no sólo de proteínas concretas si no de vías y procesos celulares⁸.

5. Alteración de los patrones epigenéticos en el cáncer de mama.

La disrupción de los patrones epigenéticos a todos los niveles es una de las características principales de las células tumorales. La importancia de los cambios epigenéticos en la tumorigénesis mamaria también se ha puesto de manifiesto en estudios genómicos que han demostrado la recurrencia de mutaciones en proteínas reguladoras de la metilación del ADN, mo-

dificación de histonas, y remodelación de la cromatina. Las alteraciones epigenéticas serían relevantes en la capacidad de adaptación y supervivencia de los tumores a diferentes presiones selectivas, estando por tanto en la base de la gran heterogeneidad celular tumoral. Las alteraciones genéticas también tendrían un papel importante, añadiéndose nuevas mutaciones durante los procesos de replicación alterados, pero sin duda los cambios epigenéticos tendrían un papel clave ya que son mecanismos rápidos que pueden cambiar el perfil molecular de la célula en poco tiempo¹. La identificación de dichas alteraciones presenta un potencial uso clínico, y actualmente existen numerosos estudios basados tanto en la búsqueda de factores epigenéticos diagnósticos, pronósticos y predictivos, así como en el desarrollo de fármacos que permitan revertir tales aberraciones^{5,9,10}.

► Metilación aberrante en cáncer de mama.

Las células tumorales presentan de forma característica dos tipos de aberraciones relacionadas con la metilación del ADN:

- 1/ Pérdida de metilación global (hipometilación global), la cual puede afectar a secuencias repetitivas e incrementar la inestabilidad cromosómica.
- 2/ Hipermetilación en islas CpG de determinados promotores, especialmente de genes supresores de tumores, provocando su silenciamiento.

La hipometilación global del genoma es un fenómeno temprano y común en numerosas neoplasias. Aunque los mecanismos moleculares implicados en esta aberración epigenética no están bien elucidados, se han descrito alteraciones en la actividad de las familias de metilasas DNMT y desmetilasas TET que podrían estar casualmente relacionadas con este fenómeno². La pérdida de metilación global es debida, principalmente, a la hipometilación de secuencias centroméricas repetitivas y de elementos retrovirales transponibles integrados en el genoma, así como del cuerpo de los genes, lo que resulta en inestabilidad del genoma. Así por ejemplo la desmetilación en secuencias centroméricas es una característica muy común de los tumores y de gran relevancia en la adquisición de aneuploidias.

También se puede producir hipometilación en las regiones promotoras de protooncogenes, dando como resultado el aumento de su expresión^{3,6}.

Además de la hipometilación global, otra gran alteración en las células tumorales es la hipermetilación gen específica, es decir en las regiones promotoras de determinados genes. Dicha alteración también es considerada un evento temprano y ha despertado un gran interés por su posible utilidad como biomarcadores diagnósticos y pronósticos. Existe una larga lista de genes que son raramente silenciados por mutaciones, pero que frecuentemente se encuentran hipermetilados en cáncer de mama. De hecho, hasta el momento se han descrito más de 100 genes hipermetilados en células de tumores mamarios y/o de cultivos celulares, la mayoría de ellos con actividad de supresores de tumores e implicados en procesos como el ciclo celular, la apoptosis, la angiogénesis o la invasión y metástasis¹⁰. Así, la hipermetilación de estos genes comportaría su silenciamiento y la supresión de su actividad como genes supresores de tumores. Un mecanismo que estaría asociado a estas alteraciones sería la sobreexpresión de ADN metiltransferasas (DNMT). En este sentido diversos estudios han correlacionado la inhibición de la actividad DNMT con la reducción de la tumorigenicidad debido al incremento de expresión de genes supresores tumorales, y de hecho las propias DNMT son dianas terapéuticas³.

► **Alteración de las modificaciones de histonas en cáncer de mama.**

Diversos estudios han investigado las alteraciones en la modificación de histonas características de las células tumorales. Así, en varios tipos de cáncer las secuencias repetitivas hipometiladas se asocian a alteraciones como la reducción en los niveles globales de metilación de la histona 4, concretamente en el residuo lisina en posición 20 (H4K20me3), y la disminución de la acetilación en el residuo 16 en la misma histona (H4K16ac). También se ha descrito la disminución de estas modificaciones en las regiones promotoras de diferentes genes supresores de tumores, reforzando su silenciamiento génico. Además de estas alteraciones comunes a muchos tipos de tumores, en cáncer de mama se han hallado alteraciones en la histona 3, concretamente en la metilación de las lisinas en posición 4 (H3K4me2)

y en posición 27 (H3K27me3)^{2,7}. Estas aberraciones estarían mediadas por la alteración en las enzimas modificadoras de histonas, como las deacetilasas y metilasas, que se encuentran sobreexpresadas y/o mutadas en diferentes tipos de cáncer incluido el de mama. Así por ejemplo, diferentes componentes de la familia Polycomb con actividad histona metilasa se han hallado sobreexpresados en cáncer de mama, como es el caso de la proteína EZH2^{3,7,11}.

► **Desregulación de microRNA en cáncer de mama.**

El estudio de la implicación de los microRNA en la tumorigénesis mamaria ha crecido exponencialmente en los últimos años. En función de sus ARN mensajeros diana los microRNA actúan como lo que se denomina oncomiRNA (bloquean la traducción de supresores tumorales) o como miRNA supresor de tumores (bloquean la traducción de oncogenes). Existen numerosas evidencias de la alteración de los patrones de expresión de estos pequeños ARN en diversas neoplasias, incrementándose los niveles de oncomiRNA y disminuyendo los niveles de los que actúan como supresores tumorales^{2,3,8}.

En última instancia hay que considerar que existe una interacción entre los factores genéticos y los diferentes mecanismos epigenéticos en la iniciación y progresión tumoral. Diferentes mecanismos epigenéticos se complementarían para controlar el silenciamiento o expresión de determinadas regiones del genoma. Así, regiones silenciadas con una combinatoria determinada de marcas de histonas (deacetilación y/o desmetilación en determinados residuos de las histonas 3 y 4) presentarían también metilación del ADN, lo cual estaría casualmente asociado a la actividad alterada de enzimas modificadoras de histonas y DNMTs, que también interactúan entre sí. La actividad alterada de estas enzimas está frecuentemente causada por mutaciones en los genes que las codifican. Además, estos genes que codifican enzimas de la maquinaria epigenética pueden a su vez ser regulados por microRNA, a la vez que los microRNA pueden ser silenciados por diferentes mecanismos epigenéticos. No sólo los microRNA tendrían un papel en estos procesos, otros ncRNAs podrían reclutar complejos remodeladores de la cromatina a regiones específicas del genoma^{3,7}.

6. Utilidad clínica de las alteraciones epigenéticas en cáncer de mama.

Más allá del conocimiento de los mecanismos moleculares implicados en la carcinogénesis mamaria, el estudio de las alteraciones epigenéticas tiene diversas utilidades clínicas potenciales. Por una parte, la caracterización epigenética podría mejorar la estratificación de los tumores mamarios, mejorando así el diagnóstico y la predicción del comportamiento de la enfermedad. Además, los biomarcadores epigenéticos, especialmente el ADN metilado o los microRNA (ambos tipos de moléculas muy estables y relativamente fáciles de analizar) podrían ser de utilidad diagnóstica dada la posibilidad de aislar estas moléculas procedentes del tumor a partir de biopsias líquidas. También es factible el uso de marcadores epigenéticos como predictores de respuesta a quimioterapia, y ya existen fármacos que utilizan elementos de la maquinaria epigenética como diana terapéutica.

► Caracterización del cáncer de mama.

En el estudio molecular del cáncer de mama se determinan fundamentalmente mutaciones genéticas y patrones de expresión de ARN. Esta caracterización se vería ampliada con el análisis de alteraciones epigenéticas, campo en rápida evolución gracias a técnicas de alto rendimiento como la secuenciación masiva que permite el análisis completo del epigenoma, similar a la determinación de los perfiles de expresión génica. De hecho se ha utilizado los patrones de metilación¹², de modificación de histonas¹³ y de expresión de microRNAs¹⁴ para reclasificar molecularmente los tumores mamarios y asociarlos a la evolución de la enfermedad.

El análisis del metiloma es el que, hasta el momento, más se ha utilizado para la reclasificación molecular de los tumores mamarios. El metiloma de las células tumorales ha mostrado ser específico del tipo de tumor, y esta característica pretende ser utilizada clínicamente para la clasificación de metástasis de origen desconocido¹⁵. Además, y en cuanto al cáncer de mama, se ha descrito que los perfiles de metilación están relacionados con los subtipos de cáncer caracterizados en función del perfil de expresión génica⁶. Paralelamente se ha sugerido un panel de 86 posiciones CpG capaz de

caracterizar un subtipo de tumores con un importante componente inmunitario, concretamente la infiltración de linfocitos T, con valor pronóstico¹⁶. Otras investigaciones han asociado también el perfil de metilación del ADN con algunos subtipos moleculares, definiendo dos nuevos subtipos en función de su epigenoma: Epi-Basal, caracterizado por la pérdida de marcas epigenéticas que causa roturas en los cromosomas, y Epi-Luminal B asociado a una supervivencia menor de las pacientes¹².

► Marcadores diagnósticos, pronósticos, de respuesta a tratamiento.

Cambios epigenéticos como de la metilación del ADN suceden en etapas muy tempranas de la carcinogénesis, y son posibles de estudiar a partir de fluidos como sangre periférica o lavado ductal, técnicas poco invasivas. Los mejores candidatos para ser analizados a partir de biopsias líquidas serían secuencias de ADN metilado y los microRNAs. Los avances metodológicos permiten detectar en sangre periférica (suero o plasma) de pacientes de cáncer células tumorales circulantes (CTC), ADN libre (cfDNA), y microRNAs, así como aislar exosomas y microvesículas^{8,17}. Estas últimas partículas circulantes son diferentes tipos de vesículas (que se diferencian por tamaño y contenido) liberadas activamente por todas las células al espacio extracelular, y que contienen moléculas bioactivas que pueden interactuar específicamente con células diana¹⁸. Las pacientes de cáncer muestran niveles anormalmente elevados de cfDNA en sangre periférica que se liberaría por necrosis y apoptosis de células tumorales, así como un incremento de exosomas y microvesículas circulantes que pueden ser una valiosa fuente de biomarcadores específicos. En cualquier caso el ADN tumoral obtenido de sangre periférica podría ser un biomarcador no invasivo para detectar cáncer en estadios iniciales o seguir la respuesta a un tratamiento^{17,19}.

Las evidencias sobre la utilidad diagnóstica de marcadores de ADN metilado en sangre, concretamente ADN de sangre total y ADN libre circulante en suero o plasma, han sido recientemente revisadas¹⁷. Aunque se observó una hipometilación del ADN en pacientes de cáncer de mama, no existen datos concluyentes sobre su utilidad como biomarcador.

▸ Símbolo	▸ Gen	▸ Función	▸ Tipo de muestra / Asociación
• APC	Adenomatous polyposis coli	Gen supresor de tumores (apoptosis, adhesión, migración)	▸ Suero/plasma: Detección precoz ¹⁷ .
• ATM	ATM serine/threonine kinase	Control del ciclo celular, estabilidad genómica	▸ Sangre periférica: Riesgo de enfermedad ¹⁷ .
• BRCA1	Breast cancer 1	Gen supresor de tumores (estabilidad genómica, control del ciclo celular)	▸ Suero/plasma: Detección precoz ¹⁷ . ▸ Sangre periférica: Riesgo de enfermedad ¹⁷ . ▸ Tejido: Supervivencia tras quimioterapia adyuvante ¹⁰ .
• CD3D	CD3 antigen, delta subunit	Regulación de la respuesta inmune	▸ Tejido: Supervivencia (cáncer de mama subtipo ER-/HER2-) ²⁰
• GSTP1	Glutathione S-transferase pi 1	Detoxificación	▸ Suero/plasma: Diagnóstico precoz ¹⁷ . ▸ Tejido: Supervivencia ¹⁰ .
• HLA-A	Major histocompatibility complex, class I, A	Procesamiento y presentación de antígenos	▸ Tejido: Supervivencia (cáncer de mama subtipo ER-/HER2-) ²⁰
• PITX2	Paired-like homeodomain 2	Diferenciación celular	▸ Plasma: Supervivencia ¹⁰ . ▸ Tejido: Respuesta a quimioterapia adyuvante, recurrencia ¹⁰ .
• RARb	Retinoic acid receptor beta	Crecimiento y diferenciación celular	▸ Suero/plasma: Detección precoz ¹⁷ . ▸ Tejido: Supervivencia libre de recidiva, supervivencia global ¹⁰ .
• RASSF1A	Ras association domain family member 1	Gen supresor de tumores (control del ciclo celular)	▸ Suero/plasma: Detección precoz ¹⁷ , supervivencia libre de recidiva y global ¹⁰ . ▸ Tejido: Progresión de la enfermedad, supervivencia global ¹⁰ .
• SYNM	Synemin	Organización del citoesqueleto	▸ Tejido: Supervivencia libre de recidiva ¹⁰ .
• SFN	Stratifin, 14-3-3 sigma	Apoptosis, control del ciclo celular	▸ Suero/plasma: Detección precoz ¹⁷ .
• Twist	Twist family bHLH transcription factor 1	Diferenciación, metástasis	▸ Tejido: Supervivencia ¹⁰ .

Tabla 2.1: Selección de genes que se han sugerido marcadores epigenéticos de utilidad en cáncer de mama.

En cuanto a la metilación gen-específica, en la literatura se ha publicado el estudio de decenas de genes, y los datos más robustos apuntarían a la utilidad de la detección de metilación de BRCA1 (en sangre total) de RASSF1A (en suero o plasma), o del gen ATM¹⁷ (Tabla 2.1). Otras investigaciones han hallado en las células obtenidas por lavado ductal metilación aberrante en un panel de genes capaz de predecir la presencia de tumor¹⁹.

En cuanto a potenciales marcadores pronósticos y predictivos, la mayoría se ha intentado identificar mediante aproximaciones puntuales a genes candidatos o paneles de unos pocos genes, aunque una de las áreas de mayor expansión es la asociación con los patrones de metilación.

Actualmente es de utilidad la detección de gen MGMT metilado en glioblastoma, como parámetro predictivo de respuesta a temozolomida. En cáncer de mama se ha estudiado la metilación de numerosos genes supresores de tumores además de perfiles de metiloma con posibilidad de ser biomarcadores²⁰. Desde el punto de vista de genes candidatos, algunos de los más estudiados son RASSF1A (asociado a progresión y a supervivencia libre de enfermedad), PITX2 (respuesta a tratamiento), el panel GSTP1, Twist y RARβ (mortalidad), o BRCA1 (supervivencia y respuesta a tratamiento) (Tabla 2.1). Así, aunque el posible uso de los biomarcadores epigenéticos parece prometedor, hacen falta más evidencias y estudios epidemiológicos para precisar su verdadera utilidad clínica.

A pesar de ser menos estudiados, algunos trabajos también pretenden hallar modificaciones de histonas con potencial uso clínico, como el descenso de las modificaciones H3K4me2, H3K27me3, H4R3me2 y H4K20me3, asociadas con peor pronóstico clínico y menor supervivencia⁷. Sin embargo, los microRNAs son actualmente los que están despertando gran interés debido a su estabilidad y relativa facilidad de análisis. Se han sugerido diferentes paneles de microRNA como marcadores de utilidad diagnóstica, como predictores del estatus de receptores y HER2, o como factores pronósticos y predictivos de respuesta a tratamiento⁸. De hecho, existen varios ensayos clínicos con el objetivo de introducir la detección de microRNA en la práctica clínica oncológica. Así, hasta el momento se han sugerido diversos paneles como posibles biomarcadores diagnósticos (p.e. miR-155 y miR-195), pronósticos (p.e. miR-29b y la familia miR-30) y predictivos de respuesta a tamoxifen (p.e. miR-30c y miR-220)⁸.

► **Dianas terapéuticas.**

El carácter intrínsecamente reversible de los mecanismos epigenéticos ha estimulado la búsqueda de fármacos que puedan restablecer los patrones epigenéticos. Los más investigados son inhibidores de enzimas de la maquinaria epigenética, concretamente de DNA metil transferasas (DNMT) e histona desacetilasas (HDAC). Cuatro de estos inhibidores son utilizados en la práctica clínica, dos inhibidores de DNMT (azacitidina -Vidaza[®]- y decitidina -*Dacogen*[®]-) y dos inhibidores de HDAC (vorinostat -SAHA- y romidepsina), aprobados para el tratamiento de subtipos de leucemia y linfoma³. Además de estos fármacos ya en uso, numerosas moléculas inhibidoras de estas mismas enzimas están en fase de ensayo clínico para el tratamiento de linfomas, diversos tipos de leucemias y tumores sólidos. Además, nuevas moléculas inhibidoras de otras enzimas modificadoras de histonas (las metiltransferasas DOT1L y EZH2, la desmetilasa LSD 1) están también en estudio clínico^{3,11}. En general la desmetilación global que inducen estos fármacos epigenéticos y/o la pérdida de las modificaciones de histonas reactivarían genes aberrantemente silenciados.

Sin embargo, su acción puede inducir efectos secundarios como la inestabilidad genómica y/o el aumento de la expresión de protooncogenes. Por lo tanto, es necesaria la búsqueda de nuevas dianas epigenéticas que puedan ser más específicas.

Las enzimas metiladoras de ADN y modificadoras de histonas no son solo diana de estrategias terapéuticas. Han sido también investigadas en la prevención que algunos factores dietéticos podrían tener sobre el riesgo de cáncer de mama. Así, diversas sustancias de la dieta han mostrado actividad inhibidora de DNMT e HDAC, y están en marcha ensayos clínicos con diversos suplementos de estas sustancias (resveratrol, curcumina, genisteína, extracto de te, entre otros). Concretamente, en cáncer de mama, la suplementación con resveratrol se asoció a una disminución de la metilación de RASSF1A⁴.

Por otro lado, los microRNA están siendo objeto de numerosas investigaciones también por su potencial uso terapéutico³. Estas moléculas pueden regular varios ARN mensajeros a la vez y por tanto ejercer un control sobre redes o vías celulares, algunas de las cuales tienen un papel en patogénesis. Así, moléculas inhibidoras de microRNA concretos están generando bastantes expectativas. De hecho, se encuentran en fase de ensayo preclínico o clínico diferentes inhibidores de microRNA para su uso en tumores hepáticos (miR221, miR34), glioblastoma (miR10b) y tumores hematológicos (miR155). En cáncer de mama se ha investigado experimentalmente la inhibición de miR21/miR155/miR17-5p y de miR1/miR133, provocando muerte celular⁹. Serán necesarias más evidencias para dilucidar su utilidad clínica en el tratamiento de cáncer en general, y en el de mama en particular.

☞ Take-Home messages: Ideas a retener.

- Los mecanismos epigenéticos modifican la expresión génica sin alterar la secuencia de ADN.
- Se incluyen en estos mecanismos la metilación del ADN, las modificaciones de histonas, y la expresión de microRNAs, entre otros.
- La alteración de los patrones epigenéticos tiene un papel clave en la patogénesis del cáncer.
- En cáncer de mama se han descrito alteraciones en todos los niveles, fundamentalmente hipometilación global del ADN, hipermetilación de genes supresores tumorales, alteración en las modificaciones postraduccionales de histonas, y perfiles aberrantes de expresión de microRNA.
- Patrones epigenéticos aberrantes en los tumores se asocian a los diferentes subtipos de cáncer de mama.
- Se han propuesto perfiles epigenéticos con valor añadido para la estratificación de los tumores y que indicarían nuevos subtipos de cáncer de mama.
- La posibilidad de detectar moléculas de ADN metilado y microRNA proveniente del tumor a partir de biopsias líquidas, convierte a estas moléculas en potenciales biomarcadores diagnósticos y de riesgo de enfermedad.
- Numerosos estudios indican que la determinación de alteraciones epigenéticas proporciona una valiosa información, con posible aplicación clínica como en la prognosis o la predicción de respuesta al tratamiento.
- Una de las principales características de los mecanismos epigenéticos, su reversibilidad, los convierte en interesantes dianas terapéuticas.
- De hecho, cuatro agentes inhibidores de la maquinaria epigenética (de DNMT y de HDAC) son ya utilizados en la práctica clínica.
- Además, numerosas moléculas cuyas dianas son enzimas epigenéticos o microRNAs están siendo evaluadas en diferentes ensayos clínicos.

- Aunque hacen falta estudios que aporten más evidencias sobre la utilidad de los biomarcadores epigenéticos en cáncer de mama, la epigenética es un campo prometedor en rápida expansión que permitirá un mejor conocimiento y manejo de esta enfermedad.

► Agradecimientos:

Las investigaciones en el laboratorio de los autores han sido financiadas por ayudas del:

- Plan Nacional de I+D+I (AGL2006-07691; AGL2011-24778).
- Fundación Patrimonio Comunal Olivarero (FPCO) (FPCO2008-165.396; FPCO2013-CF611.084).
- Agencia para el Aceite de Oliva del Ministerio de Medio Ambiente y de Medio Rural y Marino (AAO2008-165.471).
- Organización Interprofesional del Aceite de Oliva Español (OIAOE) (OIP2009-CD165.646).
- Departaments d'Agricultura, Alimentació i Acció Rural, i de Salut de la Generalitat de Catalunya (GC2010-165.000).
- FPCO y OIAOE (FPCO-OIP2016-CF614.087).
- Fundación Técnica y Humanismo (FTH2008-CF165.463).

Los autores quieren agradecer su colaboración a los Dres. Alfons Modolell, Teresa Checa, Caterina Madroñal y a la Sra. Mercè Martínez, del Institut D'Oncologia Clínica (IDOC), así como al Dr. Josep M^a Laín, del Consorci Sanitari de Terrassa (CST).

📖 Bibliografía:

1. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646-74.
2. Esteller M. Epigenetics in cancer. *N Engl J Med*. 2008;358(11):1148-59.
3. Xia J, Guo X, Deng K. Epigenetics, microRNAs and human cancer. En: Babashah S, editor, *MicroRNAs: key regulators of oncogenesis*, Springer; 2014. p. 29-57.
4. Kim HS, Kacew S, Lee BM. Genetic and epigenetic cancer chemoprevention on molecular targets during multistage carcinogenesis. *Arch Toxicol*. 2016;90(10):2389-404.
5. Rodríguez-Miguel C, Moral R, Escrich R, et al. The role of dietary extra virgin olive oil and corn oil on the alteration of epigenetic patterns in the rat dmba-induced breast cancer model. *PLoS One*. 2015;10(9):e0138980.
6. Singhal SK, Usmani N, Michiels S, et al. Towards understanding the breast cancer epigenome: a comparison of genome-wide DNA methylation and gene expression data. *Oncotarget*. 2016;7(3):3002-17.
7. Greer EL, Shi Y. Histone methylation: a dynamic mark in health, disease and inheritance. *Nat Rev Genet*. 2012;13(5):343-57.
8. Amorim M, Salta S, Henrique R, et al. Decoding the usefulness of non-coding RNAs as breast cancer markers. *J Transl Med*. 2016;14:265.
9. Christopher AF, Kaur RP, Kaur G, et al. MicroRNA therapeutics: Discovering novel targets and developing specific therapy. *Perspect Clin Res*. 2016;7(2):68-74.
10. Terry MB, McDonald JA, Wu HC, et al. Epigenetic biomarkers of breast cancer risk: across the breast cancer prevention continuum. *Adv Exp Med Biol*. 2016;882:33-68.
11. Morera L, Lübbert M, Jung M. Targeting histone methyltransferases and demethylases in clinical trials for cancer therapy. *Clin Epigenetics*. 2016;8:57.
12. Stefansson OA, Moran S, Gomez A, et al. A DNA methylation-based definition of biologically distinct breast cancer subtypes. *Mol Oncol*. 2015;9(3):555-68.
13. Chen X, Hu H, He L, et al. A novel subtype classification and risk of breast cancer by histone modification profiling. *Breast Cancer Res Treat*. 2016;157(2):267-79.
14. Kurozumi S, Yamaguchi Y, Kurosumi M, et al. Recent trends in microRNA research into breast cancer with particular focus on the associations between microRNAs and intrinsic subtypes. *J Hum Genet*. 2017;62(1):15-24.
15. Moran S, Martínez-Cardús A, Sayols S, et al. Epigenetic profiling to classify cancer of unknown primary: a multicentre, retrospective analysis. *Lancet Oncol*. 2016;17(10):1386-95.
16. Dedeurwaerder S, Desmedt C, Calonne E, et al. DNA methylation profiling reveals a predominant immune component in breast cancers. *EMBO Mol Med*. 2011;3(12):726-41.
17. Tang Q, Cheng J, Cao X, et al. Blood-based DNA methylation as biomarker for breast cancer: a systematic review. *Clin Epigenetics*. 2016;8:115.
18. Ravelli A, Reuben JM, Lanza F, et al. Breast cancer circulating biomarkers: advantages, drawbacks, and new insights. *Tumour Biol*. 2015;36(9):6653-65.
19. Suijkerbuijk KP, van der Wall E, Vooijs M, et al. Molecular analysis of nipple fluid for breast cancer screening. *Pathobiology*. 2008;75(2):149-52.
20. Györfy B, Bottai G, Fleischer T, et al. Aberrant DNA methylation impacts gene expression and prognosis in breast cancer subtypes. *Int J Cancer*. 2016;138(1):87-97.

▶ Capítulo 3

Estilo de vida y cáncer de mama.

José Manuel de León Carrillo, M^a Carmen Chacón Aguilar, María Ángeles Fernández Venegas, José María Sousa Vaquero, Lina Alfaro Galán.

El cáncer sigue siendo uno de los principales problemas de salud y es una de las principales causas de morbimortalidad del mundo, con aproximadamente 14 millones de casos nuevos en el año 2012 (EUCAN y GLOBOCAN, OMS). Las estimaciones poblacionales indican que el número de casos nuevos aumentará en las dos próximas décadas a 22 millones de casos nuevos al año¹.

En España, según el informe de la SEOM 2017, en las últimas décadas, el número de tumores diagnosticados ha experimentado un crecimiento constante debido no sólo al aumento poblacional, sino también a las técnicas de detección precoz y al incremento de la esperanza de vida, ya que el riesgo de desarrollar tumores aumenta con la edad. Según los datos publicados por la Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN)², el número total de nuevos casos de cáncer en España en 2015 fue de 247.771 (148.827 en varones y 98.944 en mujeres). Los tipos de cáncer más frecuentemente diagnosticados en el año 2015 fueron el colorrectal (41.441 casos), próstata (33.370 casos), pulmón (28.347 casos), mama (27.747 casos) y vejiga (21.093 casos)³.

Siendo el cáncer de mama el tumor más frecuentemente diagnosticado en la mujer con una tasa cruda (CR: Crude Rate) de 117,5, tasa de incidencia estandarizada por edad mundial (ASIRw) 65,2 y tasa de incidencia estandarizada por edad en Europa (ASIRe) de 88,3. Con una alta prevalencia a los 5 años de 104.210 casos, en 2012 se diagnosticaron 25.215 de cáncer de mama y la mortalidad fue tan sólo de 6.075³. Estas tendencias reflejan las mejoras en la supervivencia de los pacientes debido a las actividades preventivas, las campañas de diagnóstico precoz y a los avances terapéuticos de estos últimos años que se reflejarán más fidedignamente en los datos epidemiológicos de los próximos años.

El cáncer de mama tiene una predisposición genética hereditaria en una escasa proporción de casos menor de un 10%, siendo fundamentalmente un carcinoma esporádico, existiendo una fuerte interacción del estilo de vida y las condiciones ambientales tanto en el material genético como epigenético⁴, pudiendo verse afectado por la obesidad, dieta, actividad física, tóxicos, infecciones y el medio ambiente. De los datos publicados por la OMS en su Informe Mundial del Cáncer 2014, alrededor de 1/3 de las muertes por cáncer son debidas a causas evitables, incluyendo el tabaco (responsable de hasta un 33% de los tumores a nivel global), las infecciones (responsables de un 18% de los tumores fundamentalmente en los países en vías de desarrollo), el alcohol (responsable de hasta un 12%) y la obesidad que en las pacientes postmenopáusicas con cáncer de mama supone un 23,8%⁵.

El estilo de vida es por tanto la causa de mayor impacto, hasta un 75%, en el desarrollo de mutaciones del ADN que originan enfermedades precursoras del cáncer: tabaquismo, exceso de irradiación ultravioleta, mala alimentación, obesidad, alcohol y sedentarismo. Ante ello se pueden implementar medidas de prevención que conllevarían una franca disminución de la mortalidad por cáncer, en concreto en mujeres menopáusicas se podría disminuir un 60% el riesgo de cáncer de mama invasivo^{5,6}. Por tanto, por la relevancia que presenta, en este capítulo analizaremos los efectos del estilo de vida y el cáncer de mama.

1. Obesidad y cáncer de mama.

En los últimos decenios los alimentos industriales hiper transformados enriquecidos en grasa, azúcar, sal, harinas refinadas y aditivos especiales, pero desprovistos de nutrientes esenciales han invadido el mercado y han inducido un cambio en la alimentación en los países desarrollados, a la vez que ha aumentado el índice de sobrepeso en un 70%⁵.

El peso saludable en una persona depende de su estatura, por lo que las recomendaciones para un peso sano son expresadas en términos del índice de masa corporal (IMC o BMI). El IMC se calcula tomando en cuenta peso y estatura, $IMC = \text{Kg}/\text{m}^2$ en general, cuanto mayor sea el IMC, más grasa corporal tiene una persona (aunque hay excepciones).

A menudo, el IMC se usa como un recurso de detección para ayudar a decidir si su peso pudiera ponerle en riesgo de problemas de salud, tal como enfermedades del corazón, diabetes y cáncer.

Para la mayoría de los adultos, la OMS considera que el IMC inferior al 18,5 está por debajo de rango y se considera infra peso, dentro de un rango entre 18.5 y 24.9 es un peso saludable, entre 25 y 29.9 indica sobrepeso y un IMC mayor de 30 indica obesidad⁶.

El sobrepeso genera inflamación crónica, trastornos metabólicos como un exceso de producción de estrógenos y resistencia a la insulina con la consecuente hiperglucemia, estando descrito un incremento del 40% de la incidencia de cáncer de mama en mujeres con diabetes mellitus, originando un caldo de cultivo ideal para el desarrollo de enfermedades crónicas y en especial el cáncer de mama, de ahí la importancia de mantener un peso saludable⁵.

La obesidad tiene un comportamiento dispar en el riesgo de cáncer de mama: en las mujeres premenopáusicas se comporta como un protector del riesgo, porque los niveles de la globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG) es elevado, por tanto la fracción de estradiol libre es menor, sin embargo en las mujeres postmenopáusicas el nivel SHBG está disminuido y los niveles de estrógenos libres están elevados en un 50%-100% superior en mujeres obesas por el incremento de la actividad de la aromatasas (enzima que convierte los andrógenos en estrógenos a nivel de los adipocitos), con el consiguiente incremento del riesgo de cáncer de mama 1,5 veces mayor que las mujeres con peso normal^{5,6}.

El IMC es un factor pronóstico per se en pacientes con cáncer de mama, un IMC elevado se asocia con una supervivencia menor tanto global como libre de enfermedad⁶.

2. Actividad física.

En la actualidad el modo de vida que desarrollan los países industrializados favorece el sedentarismo por la realización de pocos esfuerzos en su vida laboral y de ocio, salvo las profesiones físicamente exigentes. La mayoría de la población hace una ingesta hipercalórica y poco ejercicio físico, lo que conlleva a un sobrepeso con las consecuencias de inducir enfermedades crónicas y neoplásicas⁵.

El ejercicio y la actividad física protegen contra el desarrollo de cáncer de mama. Dicho efecto protector es más evidente en mujeres delgadas, con un IMC menor de 25. Diversos análisis epidemiológicos han demostrado una correlación inversa entre los niveles de actividad física y el riesgo de desarrollar esta neoplasia⁷.

El ejercicio físico de gran intensidad puede interferir con el ciclo menstrual, suprimiendo la liberación pulsátil de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). Este efecto reduce la exposición acumulativa del potencial hormonal cíclico, tanto de los estrógenos como de la progesterona, sobre el tejido glandular mamario y en consecuencia causa inhibición de la carcinogénesis⁷. A largo plazo, el ejercicio y actividad física intensa puede disminuir la secreción de estradiol y progesterona reduciendo la duración de la fase lútea, induciendo la anovulación, retrasando la menarquía y produciendo una amenorrea secundaria^{6,7}.

El estudio WISER⁸ demuestra cambios en el metabolismo de los estrógenos en mujeres premenopáusicas que realizan ejercicio moderado / intenso durante 150 minutos a la semana, con una reducción en el riesgo para desarrollar cáncer de mama.

También en mujeres postmenopáusicas una alta actividad física se asocia a un menor riesgo de cáncer de mama, hasta de un 25% en mujeres físicamente activas frente a las menos activas. El ejercicio aumenta los niveles de globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG), disminuyendo los niveles de estrógenos y andrógenos libres⁶⁻⁸.

Con el fin de reducir sustancialmente el riesgo de padecer esta neoplasia es aconsejable realizar al menos 150 minutos de actividad física de intensidad moderada o 75 minutos de intensidad vigorosa por semana (o una combinación de ambas), preferiblemente repartidos a través de la semana (3 a 5 días)⁹. Hay que limitar las conductas sedentarias como el permanecer sentados, acostados y largas jornadas ante la televisión o cualquier pantalla. Realizar alguna actividad física adicional a las actividades habituales, independientemente cuál sea el nivel de la actividad, puede brindar muchos beneficios para la salud^{9,10}.

3. Ingesta de alcohol.

Según la OMS el abuso del alcohol causa al año 3,3 millones de muertes, lo que significa el 6% de los fallecimientos a escala mundial⁵.

El alcohol está considerado por el Centro Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC) un agente cancerígeno del grupo 1, es decir, que su poder cancerígeno está demostrado. Sin embargo, la elevación del riesgo de cáncer se debe al acetaldehído producido en su metabolismo e incide fundamentalmente en carcinomas digestivos⁵.

El vino tinto representa el 8% del consumo mundial de alcohol, muy inferior a los licores (50%) y la cerveza (35%), tiene una concentración de acetaldehído dos veces menor que las demás bebidas alcohólicas (1,3mg), y su concentración salival es mucho menor. Es más rico en polifenoles que el vino blanco: flavonoides (quercitina y catequina) y resveratrol que justifican los beneficios cardiovasculares y antineoplásicos⁵. El vino tinto se asocia con altos niveles de testosterona libre, niveles bajos de SHBG y altos niveles de hormona luteinizante (LH) versus el vino blanco en mujeres premenopáusicas⁶.

El consumo de vino de forma moderada (uno o dos vasos al día) se asocia con la disminución de la incidencia de enfermedad cardiovascular, hipertensión, diabetes y ciertos tipos de cáncer, como el de colon, mama, pulmón o próstata¹¹. Sin embargo, las evidencias científicas acerca de los efectos protectores del resveratrol son insuficientes¹².

El efecto protector de las cantidades bajas de la ingesta de alcohol se debe en gran parte a que incrementa los niveles de colesterol (HDL), mejora el control de la glucemia, sus propiedades anticoagulantes y antiinflamatorias, factores que contribuyen al descenso de enfermedades cardíacas⁵. En cambio, una mujer que consuma más de 20 gr de alcohol¹⁵, es suficiente para anular casi todo el efecto protector y se describe que la ingesta de una sola bebida alcohólica al día es suficiente para incrementar el riesgo de cáncer de mama^{13,14}.

El consumo medio de alcohol en los países desarrollados es de 6,0 gr por día y se estima que aproximadamente el 4% de los cánceres de mama son atribuibles al alcohol. La incidencia acumulada de cáncer de mama en la edad de 80 años se estima

que aumentará progresivamente según la cantidad ingerida de alcohol, desde el 8,8% en las no bebedoras hasta un 9,4% con una sola bebida alcohólica ingerida al día hasta el 13,3%, si consumen 6 bebidas por cada 100 mujeres¹⁴.

Según el estudio EPIC¹⁵ (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition) el consumo de alcohol se relacionó significativamente con el riesgo de cáncer de mama, por cada aumento de 10 gr / día en el consumo la *Hazard Ratio* (HR) aumentó en un 4,2% (IC del 95%: 2,7-5,8%). Tomando la cantidad de 0 a 5 g / día como referencia, la ingesta de alcohol entre 5 a 15 g / día se relacionó con un aumento del 5,9% en el riesgo de cáncer de mama (IC del 95%: 1-11%). Se observaron tendencias crecientes significativas entre la ingesta de alcohol y cáncer de mama tanto en receptores hormonales positivos, como negativos y triple negativos¹⁴. El riesgo de cáncer de mama fue más acusado entre las mujeres que comenzaron a beber antes del primer embarazo a término. Por lo tanto, las mujeres deben ser aconsejadas para controlar su consumo de alcohol^{14,15}.

4. Hábito de fumar.

El humo del tabaco contiene productos químicos, muchos de los cuales se sabe que son carcinógenos mamarios. En las últimas décadas se han ido acumulando evidencias de la relación causal del tabaquismo activo y el papel del tabaquismo pasivo en la etiología del cáncer de mama. Recientemente se ha sugerido un papel potencialmente casual para el tabaquismo activo y el cáncer de mama, particularmente por fumar en exceso a largo plazo y empezar a fumar a una edad temprana. El papel del fumador pasivo en el cáncer de mama es menos claro, aunque ha habido algunos indicios de un mayor riesgo en mujeres premenopáusicas. Los estudios recientes que evalúan el posible papel modificador de polimorfismos en genes implicados en el metabolismo de los productos del tabaco, en particular NAT2, han contribuido a dar otra dimensión a estas evaluaciones, aunque hasta la fecha la evidencia sigue siendo incierta¹⁶.

En cuanto a la asociación de cáncer de mama en fumadoras y consumo de alcohol, los resultados del estudio del Grupo de Colaboración sobre Factores Hormonales en el Cáncer de Mama, sugieren que no

hay aumento en el riesgo de cáncer de mama en mujeres que nunca fumaron en comparación con las fumadoras, RR=1,00, IC: 95% (0,93 a 1,07), para nunca fumadoras y RR= 0,94, IC del 95%: (0,84 a 1,05), para las fumadoras actuales y que el riesgo es dependiente del consumo de alcohol, se estima que el riesgo de cáncer de mama aumenta en alrededor de 0,7 por cada 100 mujeres por cada unidad adicional o bebida de alcohol consumida diariamente¹⁴.

En el estudio de cohortes y metaanálisis de Gaudet¹⁷, los resultados apoyan la hipótesis de que el tabaquismo activo es un inductor del cáncer de mama y se asocia con el aumento del riesgo para las mujeres que inician el tabaquismo antes del primer parto o que fumaron durante muchos años, con un aumento del 9% en exfumadoras y un 16% en fumadoras actuales. El riesgo entre las exfumadoras persiste hasta 20 años después de dejar de fumar⁶.

5. Dieta y cáncer de mama.

La dieta de nuestra sociedad industrializada está caracterizada por el excesivo consumo de alimentos hiper transformados, hasta el 60% de todas las calorías consumidas, con el detrimento de los alimentos protectores para la salud como frutas y verduras, que unido al sedentarismo origina el sobrepeso inductor de muchas enfermedades crónicas y neoplásicas. La OMS aconseja el consumo de al menos 5 raciones diarias (400 g) de frutas, verduras, granos integrales, especias, plantas aromáticas o bebidas como el té verde, siendo una forma excelente de aportar las vitaminas, fibra y minerales indispensables para el organismo, por su acción preventiva y por la riqueza de contenidos fotoquímicos: flavonoides, carotenoides, antocianinas y sulfitos, creando un entorno poco favorable para la progresión de las lesiones neoplásicas. Existe un incremento de la esperanza de vida en especial si se aumenta el consumo de vegetales y especias con alto contenido en fitoquímicos: familia del ajo, crucíferas, carotenoides, frutas del bosque y arándanos, nueces y frutos secos, soja, semilla de lino, té verde, aceite de oliva extra virgen (AOVE), cítricos y especias, en especial la cúrcuma^{5,18}.

La evidencia bibliográfica es contradictoria en la prevención del cáncer de mama con la ingesta enriquecida en frutas y verduras. El metaanálisis de Gandini¹⁹ sugiere un moderado efecto protector para un

alto consumo de verduras y micronutrientes. Una alta ingesta de betacarotenos y vitamina C disminuye el riesgo en mujeres postmenopáusicas que toman hormonas exógenas²⁰. Según el estudio EPIC una alta ingesta de vegetales podría por sí sola reducir el riesgo de cáncer de mama²¹.

En el estudio randomizado de Women's Health Initiative²², en mujeres postmenopáusicas con seguimiento durante 8,1 años, una dieta baja en grasa y rica en fruta y verduras no tuvo una reducción del riesgo de cáncer de mama.

El estudio caso control de Gathani²³ con mujeres vegetarianas tampoco evidencia que una dieta estricta vegetariana influya sobre el riesgo de cáncer de mama.

En el estudio WHEL²⁴ sobre alimentación y vida saludable en mujeres diagnosticadas de cáncer de mama no se evidenció diferencia significativa en la supervivencia global (SG) ni libre de enfermedad (SLE) entre el grupo tratado con una dieta pobre en grasa, rica en verduras y frutas con el grupo control.

En el estudio WINS²⁵ en pacientes diagnosticadas de cáncer de mama que reducían su consumo de grasa, se destaca que, aunque no hubo diferencias significativas entre ambos grupos, las pacientes con receptores de estrógenos (RE) y de progesterona (RP) negativos tenían mayor índice de SG y SLE, aunque ello se podría deber al descenso de peso en un 5% de estas pacientes.

Mención especial entre las grasas de origen vegetal, la del aceite de oliva virgen extra rico en oleocantal con efecto antiinflamatorio y sus compuestos fenólicos (hidroxitirosol y taxifolina) con capacidad antiangiogénica⁵, que juegan un papel primordial en la dieta mediterránea, caracterizada por la ingesta de frutas, verduras, grasas monoinsaturadas, grasas omega 3, azúcares complejos procedentes de la fibra y de los cereales, en las que las proteínas proceden principalmente del pescado y las legumbres con un menor consumo de carne roja que origina un descenso del 15% de la incidencia de cáncer de mama²⁶.

El estudio caso control EpiGEICAM²⁷ demuestra que existe un riesgo menor de cáncer de mama con la dieta mediterránea en mujeres premenopáusicas y sobre todo en cáncer de mama triple negativo.

En el estudio prospectivo PREDIMED²⁸, las participantes fueron asignadas a una dieta mediterránea suplementada con AOVE (n=1.476), una dieta mediterránea suplementada con nueces (n=1.285), o una dieta control (n=1.391). En el análisis primario, la adición de nueces o AOVE redujo significativamente el riesgo de eventos cardiovasculares y se asoció con una disminución del 68% en el diagnóstico de cáncer de mama durante un período de 4,8 años. La adición de frutos secos se asoció solo con un descenso del 41%.

La dieta rica en carne roja y embutidos^{5,6,18,29}, más de 120 g día, con una alta proporción de grasas omega 6, pobre en alimentos vegetales, combinada con sobrepeso y sedentarismo, se asocia a un incremento de cáncer, en especial de origen digestivo (colorrectal)⁵. Esta situación se incrementa sobre todo con el consumo de carne procesada (beicon, salchichas, salami) y cuando la carne está muy hecha, carbonizada, frita, asada o en las barbacoas con la formación de aminas heterocíclicas (ACH) que favorecen las mutaciones del ADN^{5,30}. Esto se puede minimizar con el marinado de las carnes con AOVE, ajo y zumo de limón o especiarla con cúrcuma. Más de cinco ingestas de carne roja a la semana en la edad adulta temprana, se asocia a un aumento del riesgo relativo de cáncer de mama 1,22 en la pre y postmenopausia, en comparación con la ingesta de carne de aves de corral, pescados, legumbres y frutos secos^{5,6,18}.

Algunos investigadores han propuesto que el té, fundamentalmente el té verde, podría proteger contra el cáncer debido a su contenido de antioxidantes, polifenoles y flavonoides en especial el galato de epigallocatequina (EGCG) la principal molécula activa. En los estudios realizados con animales, algunos tipos de té (incluyendo el té verde) han demostrado que reducen el riesgo de cáncer, fundamentalmente digestivos, próstata y hasta un 20% el de mama, pero los hallazgos de los estudios hechos en humanos no son concluyentes. Los resultados de las pruebas de laboratorio han sido prometedores, y tomar té forma parte de muchas gastronomías, pero actualmente no hay evidencia que respalde la reducción del riesgo de cáncer de mama como una razón importante para tomar té^{5,6,18,31,32}.

Algunas investigaciones sugieren que las mujeres con niveles bajos de vitamina D presentan un riesgo más alto de desarrollar cáncer de mama. En pacientes con cáncer de mama es frecuente observar un déficit de vitamina D. La vitamina D cumple una función en el control del crecimiento celular normal de la mama: el receptor de vitamina D interviene en la transcripción de los genes responsables del control del ciclo celular, apoptosis y metástasis. El consumo de 200UI/día de vitamina D y una exposición moderada a la luz del sol eleva la 25-hidroxi vitamina D y se asocia a una reducción del 50% de la incidencia del cáncer de mama^{6,18,33}.

6. Exposiciones ambientales.

Se han descrito multitud de sustancias químicas presentes en nuestro medio que se comportan como xenoestrógenos o también llamados disruptores hormonales por su capacidad de perturbar el equilibrio hormonal una vez incorporado al organismo. Los disruptores hormonales pueden afectar el modo en que el estrógeno y otras hormonas actúan, ya que las bloquean o las imitan y pueden hacer de promotores del cáncer de mama con receptores hormonales positivos^{5,18,34}.

Existen numerosos estudios que han demostrado la capacidad carcinogénica de estas sustancias en animales de experimentación, y desórdenes hormonales tras la exposición de estas sustancias. También múltiples estudios han tratado de establecer con mayor o menor éxito, una asociación entre la exposición a estas sustancias y el riesgo de cáncer de mama, pero es complejo demostrar una causalidad entre un único agente químico y la aparición tardía de un cáncer³⁴. Entre estos agentes químicos podemos mencionar:

► Los organoclorados:

Como los PCB's, el DDT y el endosulfán, utilizados sobre todo como pesticidas, acumulándose en suelos, acuíferos y en la cadena alimentaria, ya que son altamente lipofílicos y capaces de persistir en tejido adiposo³⁴.

► El bisfenol-A:

Usado principalmente para la producción de resina epoxi y en policarbonato de plástico, presente en biberones, botellas de agua, equipamiento

deportivo, dispositivos médicos y dentales, CD y DVD, electrodomésticos, recubrimiento de latas de bebidas y conservas, tuberías de agua, lado brillante de los recibos impresos de caja (para estabilizar la tinta). Es un estrógeno sintético débil y su actividad es similar a la del estrógeno, lo que lo convierte en un disruptor hormonal, como muchos otros químicos del plástico^{18,34}.

► Los ftalatos:

Empleados como plastificadores (sustancias añadidas a los plásticos para incrementar su flexibilidad), que están presentes en disolventes de perfumería y pesticidas, esmaltes de uñas, adhesivos, masillas, pigmentos de pintura, juguetes de niños y en la mayoría de los juguetes sexuales. El ftalato no actúa exactamente como el estrógeno, pero puede ser un disruptor del equilibrio de otras hormonas que interactúan con el estrógeno, incluida la testosterona^{18,34}.

► Los parabenos:

Los más comunes son el metilparabeno, el propilparabeno, el etilparabeno y el butilparabeno. Son sustancias químicas comúnmente usadas como conservantes en muchos productos cosméticos, incluidos maquillaje, humectantes, jabones, productos para el cuidado del cabello, lubricantes sexuales, medicamentos tópicos, bronceadores, cremas o geles de afeitar y desodorantes (la mayoría de las marcas más importantes de antitranspirantes y desodorantes no contienen parabenos). Los parabenos pueden penetrar en la piel y actuar como una versión débil del estrógeno en el cuerpo, lo cual puede causar una activación del crecimiento de cáncer de mama con receptores hormonales positivos. Se han hallado parabenos en el tejido mamario y en el cáncer de mama, pero esto no justifica la relación causal de inductor neoplásico. También se hallaron parabenos en muchos otros tejidos por su amplio uso^{18,34,35}.

► El diclorometano:

Se utiliza como disolvente industrial y para eliminar pintura, en algunos aerosoles y pesticidas y se usa en la manufactura de película fotográfica³⁴.

► Antitranspirantes:

Existe la leyenda que estas sustancias provocan que la piel absorba los ingredientes químicos de sus componentes, que bloquean la liberación de toxinas al sudar y causan que estas se acumulen en las axilas y mamas. Pero la realidad es que ni el antitranspirante más fuerte puede bloquear toda la transpiración de las axilas. La mayoría de las sustancias que causan cáncer son eliminadas por los riñones o se metabolizan en el hígado. La sudoración no es un modo importante de liberación de toxinas para el cuerpo. Si bien hay preocupaciones sobre los productos químicos tales como los ftalatos y parabenos, antes mencionados, que se usan para aportar fragancia y conservar el producto y los compuestos de aluminio³⁶, que se usan en los antitranspirantes como el ingrediente activo, formando una cubierta temporal de las glándulas sudoríparas e impidiendo que el sudor fluya a la superficie de la piel. Algunos estudios sugieren que los compuestos de aluminio, los cuales se aplican frecuentemente y se dejan en la piel cerca del seno, pueden ser absorbidos por la piel y actuar como un disruptor hormonal con capacidad estrogénica¹⁹. Algunos estudios han concluido que no existe una asociación entre el uso de antitranspirantes y el riesgo de cáncer de mama^{18,37}.

7. Sujetador y cáncer de mama.

Existe en los medios de información y en el público en general la creencia que llevar un sujetador, en especial si es portador de aros, puede ser un factor de riesgo para el cáncer de mama, basado en el potencial del sujetador de poder impedir la circulación y drenaje linfático y por lo tanto interferir con el proceso de eliminación de desechos y toxinas. Ninguna característica del sujetador: tamaño del sujetador, de la copa, el tiempo promedio de uso de la prenda, tener aros o la edad en la que comenzó a usar regularmente un sujetador, se asoció con riesgos de presentar cáncer de mama. El resultado del estudio de Chen no apoya una asociación entre el uso de sujetador y un mayor riesgo de cáncer de mama entre las mujeres postmenopáusicas³⁸.

📌 Take-Home messages: Ideas a retener.

- Los hábitos de vida son modificables y responsables de la alta incidencia en las mutaciones genéticas que favorecen el desarrollo de lesiones neoplásicas, por lo que nos permite implementar medidas preventivas.
- El sobrepeso en la postmenopausia desencadena inflamación crónica, alteraciones metabólicas y hormonales responsables del incremento de cáncer de mama.
- La inactividad favorece el sobrepeso y la actividad física protege contra el desarrollo de cáncer de mama, recomendando una vida activa con 150 minutos de ejercicios semanales repartidos en 3/5 sesiones.
- El alcohol, aunque su consumo a dosis moderada tiene efectos cardiosaludables, en la mujer sus efectos inductores neoplásicos son más acusados si el consumo comienza en edad antes del primer parto y dependiendo de la cantidad, incrementándose el riesgo por cada 10 g ingeridos.
- El tabaquismo activo se asocia con el aumento del riesgo para las mujeres que inician el tabaquismo antes del primer parto y fuman en exceso a largo plazo.
- La dieta es un punto de gran importancia, aconsejándose la ingesta de frutas y verduras con detrimento de carnes rojas y procesadas, las grasas insaturadas no tienen un efecto negativo sobre el cáncer de mama, recomendándose el consumo de AOVE por su papel preventivo.
- Respecto al medio ambiente debemos tener presente que muchos envases de plástico, latas de conservas y cosméticos contienen disruptores hormonales, con su papel promotor de lesiones neoplásicas mamarias.
- En conclusión, para disminuir el incremento de cáncer de mama es recomendable una dieta rica en frutas y verduras, limitando el consumo de carnes rojas y procesadas, enriquecida con aceite de oliva virgen extra (AOVE), evitar el sobrepeso, la ingesta elevada de alcohol y el tabaco, realizar una actividad física semanal y mantener libre de tóxicos nuestro entorno.

Bibliografía:

1. GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. Accesible en: <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx>
2. J. Galceran J, Ameijide A, Carulla M, et al. REDECAN Working Group. Cáncer incidence in Spain, 2015. *Clin Transl Oncol* 2017. doi:10.1007/s12094-016-1607-9.
3. Las cifras del cáncer en España 2017. SEOM. Accesible en: www.seom.org
4. Esteller M. Epigenetics in cancer. *N Engl J Med*. 2008;358(11):1148-59.
5. Béliveau R, Gingras D. La nueva alimentación anticáncer. Ed. RBA libros S.A. 2016.
6. Izquierdo Sanz M., Sabadell Mercadal D. Estilo de vida y cáncer de mama. Manual de práctica clínica en Senología 2015. Ed. Fundación de Española de Senología y Patología mamaria. ISBN 978-84-608-1664-5.
7. Herrera González N, Gómez Pantoja G. Sedentarismo, obesidad y cáncer de mama: factores de riesgo para una vía en común. *Rev Esp Méd Quir* 2014;19:251-7.
8. Smith A, Phipps W, Thomas W, Thomas W, et al. The Effects of Aerobic Exercise on Estrogen Metabolism in Healthy Premenopausal Women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013;22(5):756-64.
9. Friedenreich CM, Cust AE. Physical activity and breast cancer risk: impact of timing, type and dose of activity and population subgroup effects. *Br J Sports Med* 2008;42(8):636-47.
10. Volaklis KA, Halle M, Tokmakidis SP. Exercise in the prevention and rehabilitation of breast cancer. *Wien Klin Wochenschr* 2013;125(11-12):297-301.
11. Allen NE, Beral V, Casabonne D, et al. Moderate alcohol intake and cancer incidence in women. *J Natl Cancer Inst* 2009;101(5):296-305.
12. Sancho M, Mach N. Revisión. Efecto de los polifenoles del vino sobre la prevención del cáncer. *Nutr Hosp*. 2015;31(2):535-51.
13. Cao Y, Willett WC, Rimm EB, et al. Light to moderate intake of alcohol drinking patterns, and cancer risk: results from two prospective US cohort studies. *BMJ* 2015; 351: h4238. Doi: 10.1136 / bmj.h4238.
14. Alcohol, tobacco and breast cancer collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95067 women without the disease. *Br J Cancer* 2002;87(11):1234-45.
15. Romieu I, Scoccianti C, Chajes V, et al. Alcohol intake and breast cancer in the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Int J Cancer*: 2015;137(8):1921-30.
16. Reynolds P. Smoking and breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2013;18 (1):15-23.
17. Gaudet MM, Gapstur SM, Sun J, et al. Active Smoking and Breast Cancer Risk: Original Cohort Data and Meta-Analysis. *J Natl Cancer Inst* 2013;105(8):515-25.
18. Kushi LH, Doyle C, McCullough M, et al. American Cancer Society Guidelines on nutrition and physical activity for cancer prevention: reducing the risk of cancer with healthy food choices and physical activity. *CA Cancer J Clin* 2012;62(1):30-67.
19. Gandini S, Merzenich H, Robertson C, et al. Meta-analysis of studies on breast cancer risk and diet: the role of fruit and vegetable consumption and the intake of associated micronutrients. *Eur J Cancer* 2000;36(5):636-46.
20. Nagel G, Linseisen J, van Gils CH, et al. Dietary beta-carotene, vitamin C and E intake and breast cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Breast Cancer Res Treat*. 2010;119(3):753-65.
21. Masala G, Assedi M, Bendinelli B, et al. Fruit and vegetables consumption and breast cancer risk: the EPIC Italy study. *Breast Cancer Res Treat* 2012;132(3):1127-36.
22. Prentice RL, Caan B, Chlebowski RT, et al. Low-fat dietary pattern and risk of invasive breast cancer: The Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial. *Jama* 2006;295(6):629-42.
23. Gathani T, Barnes I, Ali R, et al. Lifelong vegetarianism and breast cancer risk: a large multicentre case control study in India. *BMC Women's Health* 2017;17(1):6.
24. Pierce JP, Natarajan L, Caan BJ, et al. Influence of a diet very high in vegetables, fruits and fiber and low in fat on prognosis following treatment for breast cancer. The Women's Healthy Eating and Living (WHEL) Randomized Trial. *JAMA* 2007;298(3):289-98.
25. Chlebowski RT, Blackburn GL, para el Women's Intervention Nutrition Study: Final Survival Analysis of the Women's Intervention Nutrition Study (WINS), which evaluates fat reduction in the diet as adjuvant therapy for breast cancer. San Antonio Breast Cancer Symposium. Summary S5-08. December, 2014.
26. Schwingshackl L., Hoffmann G. Adherence to Mediterranean diet and risk of cancer: an updated systematic review and meta-analysis of observational studies. *Cancer Med* 2015;4(12):1933-47.
27. Castelló A, Pollán M, Buijsse B, et al. Spanish Mediterranean diet and other dietary patterns and risk of breast cancer: case-control study EpiGEICAM study. *Br J Cancer* 2014;111(7):1454-62.
28. Toledo E, Salas-Salvadó J, Donat-Vargas C, et al. The Mediterranean diet and the invasive breast cancer risk among women at high cardiovascular risk in the PREDIMED trial: a randomized clinical trial. *JAMA Intern Med* 2015;175(11):1752-60.
29. Farvid MS, Cho E, Chen WY, et al. Dietary protein sources in early adulthood and breast cancer incidence: prospective cohort study. *BMJ* 2014;348:g3437.
30. Parada H, Steck S, Bradshaw P, et al. Grilled, barbecued, and smoked meat intake and survival following breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2017;109(6):djw299.
31. Suzuki Y, Tsubono Y, Nakaya N, et al. Green tea and the risk of breast cancer: pooled analysis of two prospective studies in Japan. *Br J Cancer* 2004;90(7):1361-3.
32. Yuan JM, Koh WP, Sun CL, et al. Green tea intake, ACE gene polymorphism and breast cancer risk among Chinese women in Singapore. *Carcinogenesis* 2005;26(8):1389-94.
33. Garland CF, Gorchman ED, Mohr SB, et al. Vitamin D and prevention of breast cancer: Pooled analysis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007;103(3-5):708-11.
34. Olea N, Fernández M. Endocrine disruption. *J Epidemiol Community Health*. 2007;61(5):372-3.
35. Harvey PW, Everett DJ. Significance of the detection of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens) in human breast tumours. *J Appl Toxicol* 2004; 4(1):1-4.
36. Darbre PD. Aluminium, antiperspirants and breast cancer. *J Inorg Biochem* 2005; 99(9):1912-9.
37. Fakri S, Al-Azzawi A, Al-Tawil N. Antiperspirant use as a risk factor for breast cancer in Iraq. *East Mediterr Health J* 2006;12(3-4):478-82.
38. Chen L, Malone KE, Li CI. Bra wearing not associated with breast cancer risk: a population based case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014;23(10): 2181-5.

► Capítulo 4

Edad, etnia y raza.

Ángel de la Orden de Frutos, M^a Jesús Díaz Veiga.

1. Introducción.

El cáncer de mama es el cáncer invasor más frecuente en la mujer y la segunda causa de muerte por cáncer en la mujer después del de pulmón. La mejora en los métodos de detección han incrementado su incidencia, aunque la mortalidad está disminuyendo.

La edad es el principal factor de riesgo no modificable para el cáncer de mama tanto en mujeres como en varones¹, siendo un factor importante para las decisiones de pronóstico y tratamiento.

Las diferencias en la incidencia en distintos continentes y países tienen mucho que ver con las diferencias socioeconómicas, biológicas, etc. La falta de registros en muchos países, dificulta su valoración.

2. Edad.

La incidencia del cáncer de mama se incrementa con la edad, duplicándose cada 10 años hasta la menopausia donde esta progresión disminuye, produciéndose una inflexión que no es evidente para otras formas de cáncer². Esta inflexión es conocida como gancho de Clemmesen. El gancho de Clemmesen puede reflejar la superposición de dos curvas diferentes, correspondientes a los tumores receptores de estrógeno (RE) negativos y RE positivos. Los tumores RE negativos aumentan rápidamente hasta los 50 años y después se aplanan o disminuyen, mientras que los tumores RE positivos aumentan rápidamente hasta los 50 años, y luego continúan aumentando a un ritmo más lento².

Actualmente, el riesgo de desarrollar cáncer de mama a lo largo de la vida para las mujeres es de 1/8. Más del 40% de las mujeres afectadas tiene más de 65 años. Antes de los 49 años el riesgo estimado es de 1/53, que aumenta a 1/43 para las mujeres de 50-59 y a 1/23 para las mujeres de 60-69³.

3. Edad y cáncer en el varón.

La incidencia de cáncer de mama en el varón aumentó en todos los países, pero menos que el aumento que presentó el cáncer de mama en la mujer durante el mismo periodo de tiempo, aunque la incidencia en mujeres probablemente está afectada por el cribado mamográfico⁴.

La incidencia del cáncer de mama masculino aumenta con la edad y muestra un pequeño “gancho” similar al gancho de Clemmesen para el cáncer de mama femenino. Sin embargo, el gancho masculino parece ocurrir en una edad posterior (alrededor de los 60 años) que el femenino (50-55 años).

La incidencia del cáncer de mama masculino se correlaciona con la incidencia del cáncer de mama en la mujer en todo el mundo. En los países donde la incidencia ajustada por edad en la mujer es alta, la incidencia ajustada por edad en el varón también es alta⁴.

La correlación entre la incidencia del cáncer de mama en el varón y el cáncer de mama en la mujer está presente y permanece por debajo y por encima de los 50 años. Por lo tanto, la correlación no varía según el grupo de edad femenina. Esto sugiere la posibilidad de un factor etiológico común (o factores) para el cáncer de mama en hombres y mujeres, independientemente de la condición de la menopausia.

4. Edad y subtipo histológico y molecular.

Además de los dos patrones de incidencia de edad para la expresión de RE, los datos de SEER (Cancer Incidence Public-Use Database Surveillance, Epidemiology and End Results) muestran tres curvas de tasa de incidencia según el subtipo histopatológico.

En primer lugar, hay un rápido aumento de la incidencia hasta los 50 años de edad y después un aumento más lento para los carcinomas ductal, tubular y lobulillar, y para los tumores RE positivos.

En segundo lugar, hay un rápido aumento hasta la edad de 50 años seguido de una nivelación de los carcinomas medulares e inflamatorios, similar a las curvas de los tumores RE negativos.

	<40 a	40-49 a	50-59 a	60-69 a	>70 a
▸ Luminal A	2.9%	14.2%	28.3%	31.9%	22.7%
▸ Luminal B	8.1%	20.7%	32.4%	20.8%	17.9%
▸ HER2	5.5%	16.3%	31.6%	28.8%	17.8%
▸ Triple neg	10.8%	26.5%	35.5%	17.5%	10.1%

Tabla 4.1. Incidencia del cáncer de mama y riesgo en función de la edad³.

Por último, hay un aumento constante, con el envejecimiento, de los carcinomas papilares y mucinosos².

Sin embargo, carcinomas medulares e inflamatorios con distribuciones predominantes en edades tempranas, produjeron curvas de tasa de incidencia específicas para la edad que se aplanaron o disminuyeron después de los 50 años.

Los carcinomas papilares y mucinosos presentados en edades tardías produjeron curvas de edad específicas que aumentaron de forma constante antes y después de los 50 años.

Finalmente, los carcinomas NOS, tubulares y lobulillares con poblaciones bimodales de cáncer de mama, produjeron curvas intermedias de tasa específica para la edad (es decir, las tasas por edad aumentaron rápidamente hasta los 50 años y luego continuaron para aumentar a un ritmo más lento).

La incidencia de cada subtipo molecular también varía con la edad³. **Tabla 4.1**

Los casos luminales tienen una distribución predominante en las pacientes de mayor edad. Como era de esperar, el subtipo más agresivo (triple negativo) es el que se ha presentado con mayor frecuencia en el grupo de menores de 40 años.

Los microRNA (miRNA) son una clase de pequeñas moléculas de RNA no codificante, que regulan la expresión génica. Actualmente hay estudios que relacionan los miRNA con el cáncer de mama. La edad es un factor que actúa sobre los miRNA ya que se han encontrado diferencias entre los miRNA circulantes en sangre entre las pacientes jóvenes y mayores con cáncer de mama.

5. Edad, pronóstico y supervivencia.

Las mujeres diagnosticadas con cáncer de mama a los 20-30 años parecen tener un peor pronóstico que las mujeres diagnosticadas en la mediana edad.

La razón de este patrón no es clara. Las jóvenes con cáncer de mama tienen más probabilidad de tener afectación axilar linfática, ser RE negativas y esto podría deberse, al menos en parte, a diferencias en estos importantes factores pronósticos respecto a mujeres de mayor edad.

Un estudio realizado en mujeres premenopáusicas con cáncer de mama invasivo, tratadas en el Instituto Europeo de Oncología, muestra que las menores de 35 años tuvieron un mayor porcentaje de tumores con receptores hormonales negativos, invasión vascular o linfática y tumores grado III, que las mujeres de 35 a 50 años. Las diferencias en el tamaño del tumor, la afectación de los ganglios linfáticos y el estado de HER2 entre mujeres jóvenes y ancianas diagnosticadas con cáncer de mama han sido menos claras⁵.

El cáncer de mama en mujeres jóvenes se asocia con un peor pronóstico, en parte debido a la sobre-representación de subtipos más agresivos, como el cáncer de mama triple negativo o HER2 positivo. Además, es más probable que se presenten en una etapa avanzada o tengan un diagnóstico tardío debido a un bajo índice de sospecha por parte de la paciente y de su médico. Estos factores predisponen a más recidivas locorregionales y a metástasis a distancia que contribuyen al peor resultado en mujeres jóvenes.

El efecto pronóstico negativo de la edad temprana se observa casi exclusivamente en mujeres diagnosticadas con enfermedad de bajo riesgo que no recibieron tratamiento citotóxico adyuvante. Estos resultados sugieren que las mujeres jóvenes con cáncer de mama, basándose únicamente en la edad, deberían ser consideradas como pacientes de alto riesgo y recibir tratamiento citotóxico adyuvante⁶.

Aunque más pacientes han recibido quimioterapia desde principios de los noventa, su uso es aún menos frecuente entre las mujeres mayores y reciben en general menos radioterapia que las jóvenes, lo que confirma la preferencia de la mastectomía para su tratamiento⁷.

La supervivencia relativa de las pacientes de 70 años con cáncer de mama es similar a la supervivencia de las pacientes de 40-70 años. Sólo se observaron tasas de supervivencia ligeramente inferiores para las pacientes de 80 o más años de edad, a pesar de su más escasa distribución y bajo tratamiento, lo que indica que los tumores se comportan de manera menos agresiva en las pacientes mayores. El apoyo a esta hipótesis proviene de Italia, donde también se encontró que los tumores de las mujeres mayores eran más grandes, con un mayor riesgo de enfermedad axilar positiva, pero al mismo tiempo eran más propensas a ser HER2 positivo y tener receptores positivos de estrógeno y progesterona, un menor grado e índices de proliferación más bajos⁷.

Al igual que sus homólogos más jóvenes, las pacientes con cáncer de mama más ancianas se han beneficiado del desarrollo y la introducción de procedimientos menos invasivos de estadificación y tratamiento así como de nuevos fármacos. Sin embargo, la edad sigue desempeñando un papel importante en el uso de éstos.

Se ha demostrado que el riesgo de recurrencia local de cáncer de mama aumenta en pacientes jóvenes y también afecta negativamente a la supervivencia.

El Instituto Curie de París reportó que incluso un ajuste para el tamaño clínico del tumor, el estado ganglionar, el grado histológico, los receptores hormonales, el tipo de tratamiento locorregional y la terapia sistémica adyuvante, condicionaron una supervivencia global y libre de enfermedad más bajas en el grupo de edad más joven⁸.

Hay otros estudios que contradicen esto, no encontrando diferencia relacionada con la edad en las tasas de mortalidad. Los actuales avances en el cribado, la identificación precoz de las pacientes de alto riesgo y las mejores opciones terapéuticas podrían explicarlo³.

6. Incidencia, prevalencia y mortalidad.

▼ Incidencia-prevalencia.

Se estima que 1.671.149 nuevos cánceres de mama han sido diagnosticados en 2012 (25% del total de cánceres en la mujer) y que 521.907 pacientes han muerto por la enfermedad. El riesgo en la mujer de padecer un cáncer de mama, independientemente de la raza, se ha incrementado desde la década de 1930 hasta finales del siglo XX. En general, los países desarrollados tienen mayores cifras de cáncer de mama que los países en desarrollo, probablemente debido a estilos de vida y factores reproductivos, aunque las diferencias pueden estar exageradas por la falta de cribado y falta de registros en estos países en desarrollo⁹. Las cifras de incidencia en el mundo pueden variar hasta casi cuatro veces, del 27 por 100.000 en África Central y Este Asiático a 96 por 100.000 en Europa Occidental. La incidencia global es de 43.1 per 100.000¹⁰.

En Europa, con 464.000 casos, representa el 28,8% del total de cánceres de la mujer (13.5% de todos los cánceres), siendo la tercera causa de muerte por cáncer. La incidencia fue de 71/100.000 en 2012, siendo la mayor en Norte y Oeste de Europa¹¹.

El cáncer de mama es más común en mujeres de alto estado socioeconómico, que tienen menos hijos y el primer embarazo se presenta en edades más avanzadas, que en mujeres de menor status socioeconómico. El cáncer de mama está creciendo fuertemente en América del Sur, África y Asia.

Entre las seis regiones de la Organización Mundial de la Salud (WHO), la mayor incidencia del cáncer de mama (por 100.000) fue observada en América (67.6) y la menor incidencia en el Sureste Asiático (27.8)¹².

En la población asiática que supone las 3/5 partes de la población mundial, el cáncer de mama es el tipo más común. Constituye el 39% de los cánceres de mama diagnosticados en el mundo con 600.000 casos en 2012, menor que en los países occidentales. Son diagnosticados en edades más jóvenes y estadios más avanzados. Mientras que la incidencia ajustada por edad es un tercio de la de Estados Unidos, el ratio de mortalidad / incidencia es mucho mayor (0.35 vs 0.16 respectivamente)¹³.

Por continentes, las mayores cifras de incidencia fueron en Norte América (91.6 / 100.000) y Europa Occidental (91.1 / 100.000). Las menores incidencias se dan en África Media (26.8 / 100.000) y Asia Oriental (27 / 100.000)¹⁰.

Los países con tasa de incidencia estandarizadas más elevadas son (por 100.000) Bélgica (111.9), Dinamarca (105), Bahamas (98) y Holanda (96).

En Estados Unidos, el riesgo de padecer un cáncer de mama en la mujer americana a lo largo de su vida (hasta los 85 años) es de un 12 %, pero éste varía según raza y grupo étnico (hasta los 80 años). Las mujeres blancas y afro-americanas, tienen la mayor incidencia (13% y 11% respectivamente) mientras que las asiático-americanas y de las Islas del Pacífico la menor (10%)¹⁴. Aunque es más frecuente en las mujeres de raza blanca, globalmente y en cualquier etnia es el cáncer más frecuente en la mujer¹⁵.

► Subtipos:

Entre las mujeres blancas y asiáticas se ha visto la misma distribución por subtipos, aunque hay alguna evidencia de que el tipo HER2 es más frecuente en las mujeres asiáticas¹⁶. También las mujeres hispanas tienen menos tumores RE y RP negativos que las mujeres de raza negra, pero más probabilidad que las blancas¹⁷.

En el estudio de Erica T Warner¹⁸, evaluaron la relación entre raza/etnia y supervivencia específica por cáncer de mama, acorde a subtipos, en mujeres en estadio I a III, entre mujeres asiáticas, hispanas y negras comparadas con mujeres blancas. Las mujeres asiáticas e hispanas tenían una edad media menor al diagnóstico, mientras que las negras son diagnosticadas en estadios más avanzados y con más probabilidad de ser triple negativo comparativamente con las mujeres blancas, que son diagnosticadas en estadios más precoces y RE positivos. Las mujeres asiáticas y blancas presentaron más luminales A.

En cuanto a muertes por cáncer de mama, las mujeres negras tenían un 21% más de probabilidades de morir por cáncer de mama. En tumores RE positivos, la diferencia de supervivencia entre negras y blancas fue mayor en los 2 años siguientes al diagnóstico. Las asiáticas e hispanas fueron las de menor riesgo de fallecimiento por cáncer de mama, comparadas con las blancas en todos los subtipos tumorales.

7. Factores de riesgo.

Hay factores de riesgo conocidos que pueden variar según los grupos étnicos y las razas:

► Factores reproductivos:

En Estados Unidos, el 66% de las mujeres negras, tienen su primer parto antes de los 25 años frente al 36 % de las mujeres blancas, y las mujeres afroamericanas tienen múltiples embarazos a edades jóvenes. Comparando las mujeres hispanas con las afroamericanas, es más probable que las mujeres blancas retrasen sus embarazos y tengan menos hijos¹⁹.

Otros factores que pueden influir son el tratamiento hormonal sustitutivo (THS), mucho más utilizado entre las mujeres blancas. Aunque el THS es un importante factor de riesgo en la mujer caucásica, no ha podido demostrarse esta asociación en Asia²⁰. De hecho en Estados Unidos hubo una disminución brusca de la incidencia del cáncer de mama en mujeres caucásicas en los años 2002-2003, que fue achacado a la disminución en el uso del THS, mientras que en las mujeres de raza negra no ha sucedido lo mismo, con lo que se ha estrechado la diferencia de incidencia entre los dos grupos¹⁴.

► Realización de mamografías:

La detección temprana del cáncer de mama juega un importante papel en la reducción de la mortalidad y mejorando el pronóstico de la enfermedad²¹. En los países desarrollados más del 50% de las mujeres invitadas a participar en el cribado han sido estudiadas, sin embargo, las mujeres inmigrantes y las que tienen pocos recursos económicos no se someten al cribado²².

Los programas de cribado que comenzaron en Europa en los años 1990 dieron lugar a más diagnósticos en estadio inicial, mejorando el acceso a tratamientos más efectivos y con mejor organización en los cuidados de estas pacientes.

En muchos países hubo un incremento de la incidencia en la edad de cribado que posteriormente a partir de 2004 declinó o se estabilizó. Hecho similar ha sucedido en nuestro país a partir de 2001 donde empezó a disminuir la incidencia, atribuido a saturación del cribado.

Los cánceres con RH positivos y HER2 negativos son los más frecuentes y con mayor incidencia en mujeres blancas no hispanas. Estos tumores también están positivamente relacionados con el uso de la mamografía, especialmente en mujeres blancas no hispanas.

La incidencia de cánceres de mama RE positivos es un 23% menor entre las mujeres negras que en las blancas, siendo los triple negativo más frecuentes en estas mujeres¹⁴.

También en el varón afroamericano hay un aumento del riesgo de ser diagnosticado de cáncer de mama con tumores de peor pronóstico, sugiriendo que algunos factores primarios dependientes de la raza/etnia, también contribuyen a las diferencias en la supervivencia²³.

► **Obesidad:**

Otro factor que se ha estudiado es la obesidad (índice de masa corporal: IMC ≥ 30). La prevalencia de la obesidad es alta en Sudáfrica, África del Norte, Medio Este y Norte América y aunque los datos son limitados en este momento, la evidencia actual sugiere que tiene un efecto negativo en mujeres de ascendencia asiática, tanto en el riesgo de cáncer de mama como en la supervivencia. Para las mujeres afroamericanas e hispanas, esta asociación parece ser más comparable con las mujeres blancas, particularmente cuando se tienen en cuenta por subtipos y estado menopáusico. La obesidad central podría tener mayor impacto en las mujeres afroamericanas que la adiposidad general medida por IMC²⁴. En un meta-análisis²⁵, en que se determinaba el riesgo de cáncer de mama en mujeres premenopáusicas asociado con diferentes medidas antropométricas en diferentes grupos étnicos, el incremento del IMC estuvo asociado de forma inversamente proporcional al riesgo de cáncer de mama en la premenopausia, pero al estratificarlo por etnias, esta asociación inversa se mantuvo entre mujeres africanas y caucásicas, pero no en mujeres asiáticas que presentaban una asociación positiva con el aumento del IMC. En el índice de obesidad central se detectó un significativo aumento del riesgo de cáncer de mama en premenopáusicas, aunque de forma más significativa en mujeres asiáticas.

► **Cáncer de mama hereditario:**

Aproximadamente de un 5% a 10% de los cánceres de mama son debidos a mutación autosómica dominante del BRCA1 y BRCA2⁹. Estas mutaciones son más frecuentes en ciertas poblaciones, por ejemplo el riesgo de estas mutaciones en pacientes judías ashkenazi ha sido estimado en un 2.3% o aproximadamente 1 de cada 40 pacientes. De forma similar, en otras poblaciones geográficas se han hallado mayor prevalencia de las mutaciones de BRCA1 y BRCA2 como en Suecia, Alemania y Bélgica²⁶.

En Galicia se ha demostrado la presencia de una mutación recurrente o fundadora en el exón 5 del gen BRCA1 (c.330A>G, p.R71G), que se identifica aproximadamente en el 50% de las familias de alto riesgo para cáncer de mama y ovario hereditario estudiadas en esta comunidad²⁷.

8. Mortalidad.

Aunque globalmente la supervivencia del cáncer de mama ha mejorado en los últimos 20 años en todos los grupos étnicos, persisten diferencias en algunos de ellos. Globalmente es la quinta causa de muerte por cáncer, y mientras que es la principal causa de muerte por cáncer en países menos desarrollados (324.000 muertes, 14,3 % del total), en los más desarrollados es la segunda causa de muerte por cáncer (198.000 muertes, 15,4% del total)¹⁰.

Pueden observarse diferencias entre países en la supervivencia a 5 años. De 2000-2007 la supervivencia fue menor en Europa del Este (74%) e Irlanda y Reino Unido (79%) y alta en el Norte de Europa (85%) excepto Dinamarca²⁸. En el caso de España, en 2012 se diagnosticaron 25.215 pacientes con cáncer de mama (29% del global), su mortalidad fue de 6.075 pacientes.

El estudio CONCORD-2²⁹ ha analizado los datos individuales de 25.676.887 pacientes con cáncer de 279 registros en 67 países. Para las mujeres diagnosticadas entre 2005-2009, la supervivencia del cáncer de mama a 5 años supera el 85% en 17 países. No obstante la supervivencia fue inferior al 70% en Malasia (68%) y la India (60%) y muy inferior en Mongolia (57%) y Sudáfrica (53%). Sin embargo en América Central y Sudamérica, principalmente en Brasil, Colombia y Ecuador ha aumentado la supervivencia.

En América del Norte y Oceanía tienen una alta supervivencia (84-89%), también en Europa ha aumentado, aunque algo menos.

En países en desarrollo a pesar de tener menores incidencia y cifras de mortalidad absolutas, presentan unas ratios mortalidad/incidencia (M/I), mayores a la mundial. Es el caso de Asia, donde la mortalidad ajustada por la edad es de 10.2/100.000, menor que la global que es de 12,9/100.000, pero la relación M/I, es de 0.35 vs 0.30 de la global²⁰.

En comparación a otros grupos étnicos en Estados Unidos, en las mujeres afroamericanas, el diagnóstico se realiza en estadios más avanzados con más cánceres triple negativo y presentan una mayor mortalidad, aunque la incidencia es menor que en la mujer blanca. La mortalidad relacionada con cáncer de mama en las mujeres hispanas y nativas americanas es intermedia entre las afroamericanas y las caucásicas, mientras que las japonesas y otros grupos asiáticos tienen mejores cifras de supervivencia que las caucásicas³⁰.

Estas diferencias son parcialmente explicadas por la falta de detección precoz, diagnósticos en estadios más avanzados, limitación al acceso de cuidados sanitarios, bajos recursos socioeconómicos, comorbilidades (obesidad, hábitos de vida), etc... Aunque también pueden contribuir diferencias genéticas y/o biológicas, así por ejemplo los cánceres en menores de 40 años y los triple negativo, son más frecuentes entre las mujeres afroamericanas que entre las blancas.

☞ Take-Home messages: Ideas a retener.

- El cáncer de mama es el más frecuente en la mujer y su incidencia aumenta en todo el mundo.
- El conocimiento de la incidencia de la enfermedad y su distribución geográfica es necesaria para una mejor planificación sanitaria.
- La edad es el principal factor de riesgo no modificable para el cáncer de mama tanto en mujeres como en varones.
- Existe desigualdad en cuanto a incidencia y supervivencia según etnias y razas que están en relación, aunque no solo, con el estado socioeconómico, que determina las actuaciones en materia de cribado, diagnóstico y tratamiento. Pero hay otros factores que también influyen en los resultados de supervivencia y que parecen estar más en relación con la propia raza / etnia, como la presentación en edades más jóvenes o distintos subtipos de tumores de peor pronóstico, diferencias en el IMC en diversas razas.
- Los esfuerzos para el control del cáncer de mama deben ser dirigidos al conocimiento de su epidemiología, recursos sanitarios y el cribado. Además las estrategias en el control del cáncer de mama en países en desarrollo, necesitan dirigirse a poblaciones de ámbito urbano y rural con focalizaciones en las poblaciones menos asistidas.

Bibliografía:

1. McPherson K, Steel CM, Dixon JM. Breast cancer epidemiology risk factors, and genetics. *BMJ* 2000;321(7261):624-8
2. Anderson WF, Pfeiffer RM, Dores GM, et al. Comparison of age distribution patterns for different histopathologic types of breast carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006;15(10):1899-905.
3. McGuire A, Brown JA, Malone C, et al. Effects of age on the detection and management of breast cancer. *Cancers (Basel)*. 2015;7(2):908-29.
4. Kreiter E, Richardson A, Potter J, et al. Breast cancer: trends in international incidence in men and women. *Br J Cancer*. 2014;110(7):1891-7.
5. Anders CK, Johnson R, Litton J, et al. Breast cancer before age 40 years. *Semin Oncol*. 2009;36(3):237-49.
6. Kroman N, Jensen MB, Wohlfahrt J, et al. Factors influencing the effect of age on prognosis in breast cancer: population based study. *BMJ*. 2000; 320(7233):474-8.
7. Louwman WJ, Vulto JC, Verhoeven RH, et al. Clinical epidemiology of breast cancer in the elderly. *Eur J Cancer*. 2007;43(15):2242-52.
8. de la Rochefordiere A, Asselain B, Campana F, et al. Age as prognostic factor in premenopausal breast carcinoma. *Lancet*. 1993;341(8852):1039-43.
9. Rojas K, Stuckey A. Breast cancer epidemiology and risk factors. *Clin Obstet Gynecol*. 2016;59(4):651-72.
10. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136(5):E359-86.
11. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer*. 2013;49(6):1374-403.
12. Ghoncheh M, Pournamdar Z, Salehiniya H. Incidence and mortality and epidemiology of breast cancer in the world. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016;17(S3):43-6.
13. Bridges JF, Anderson BO, Buzaid AC, et al. Identifying important breast cancer control strategies in Asia, Latin America and the Middle East/North Africa. *BMC Health Serv Res*. 2011;11:227.
14. Kohler BA, Sherman RL, Howlander N, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2011, featuring incidence of breast cancer subtypes by race/ethnicity, poverty, and state. *J Natl Cancer Inst*. 2015;107(6):djv048.
15. Centers for disease control and prevention (CDC). Vital signs: racial disparities in breast cancer severity-United States, 2005-2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2012;61(45):922-6.
16. Parise CA, Bauer KR, Caggiano V. Variation in breast cancer subtypes with age and race/ethnicity. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2010;76(1):44-52.
17. Banegas MP, Li CI. Breast cancer characteristics and outcomes among hispanic black and hispanic white women. *Breast Cancer Res Treat*. 2012;134(3):1297-304.
18. Warner ET, Tamimi RM, Hughes ME, et al. Racial and ethnic differences in breast cancer survival: Mediating effect of tumor characteristics and sociodemographic and treatment factors. *J Clin Oncol*. 2015;33(20):2254-61.
19. Chlebowski RT, Chen Z, Anderson GL, et al. Ethnicity and breast cancer: Factors influencing differences in incidence and outcome. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97(6):439-48.
20. Fan L, Goss PE, Strasser-Weippl K. Current status and future projections of breast cancer in Asia. *Breast Care (Basel)*. 2015;10(6):372-8.
21. Rahimzadeh M, Baghestani AR, Gohari MR, et al. Estimation of the cure rate in Iranian breast cancer patients. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(12):4839-42.
22. Vahabi M, Lofters A, Kumar M, et al. Breast cancer screening disparities among urban immigrants: a population-based study in Ontario, Canada. *BMC Public Health*. 2015;15:679.
23. Newman LA. Breast cancer disparities: high-risk breast cancer and African ancestry. *Surg Oncol Clin N Am*. 2014;23(3):579-92.
24. Bandera EV, Maskarinec G, Romieu I, et al. Racial and ethnic disparities in the impact of obesity on breast cancer risk and survival: a global perspective. *Adv Nutr*. 2015;6(6):803-19.
25. Amadou A, Ferrari P, Muwonge R, et al. Overweight, obesity and risk of premenopausal breast cancer according to ethnicity: a systematic review and dose-response meta-analysis. *Obes Rev*. 2013;14(8):665-78.
26. Fackenthal JD, Olopade OI. Breast cancer risk associated with BRCA1 and BRCA2 in diverse populations. *Nat Rev Cancer*. 2007;7(12):937-48.
27. Vega A, Torres M, Martínez JI, et al. Analysis of BRCA1 and BRCA2 in breast and breast/ovarian cancer families shows population substructure in the Iberian peninsula. *Ann Hum Genet*. 2002;66(Pt 1):29-36.
28. Sant M, Chirlaque Lopez MD, Agresti R, et al. Survival of women with cancers of breast and genital organs in Europe 1999-2007: results of the EURO CARE-5 study. *Eur J Cancer*. 2015; pii:S0959-8049 (15) 00702-9
29. Allemani C, Weir HK, Carreira H, et al. Global surveillance of cancer survival 1995-2009: analysis of individual data for 25,676,887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2). *Lancet*. 2015;385(9972):977-1010.
30. Maskarinec G, Sen C, Koga K, et al. Ethnic differences in breast cancer survival: status and determinants. *Womens Health (Lond)*. 2011;7(6):677-87.

► Capítulo 5

Estadio clínico. Relevancia de la clasificación TNM en la era de los biomarcadores y la medicina personalizada.

Carlos A. Fuster Diana, Andrés García-Vilanova Comas, Alejandra de Andrés Gómez.

1. Introducción.

El cáncer de mama es el más frecuente y la segunda causa de muerte entre las mujeres. Según la SEOM, en el año 2015, se diagnosticaron 27.747 casos en España y supone el 12% de todos los casos de cáncer. Se estima que el riesgo de padecer cáncer de mama a lo largo de la vida es de, aproximadamente, 1 de cada 8 mujeres.

2. Estadificación TNM.

La predicción de la evolución de la enfermedad es algo inherente a la práctica médica porque necesitamos conocer su evolución y como se puede modificar con los tratamientos. La estadificación es importante por varios motivos, el principal de ellos es que permite efectuar comparaciones válidas entre las diferentes modalidades terapéuticas y las distintas instituciones médicas.

La estadificación del cáncer de mama comenzó a principios del siglo XX. El “**paradigma halstediano**” entendía el cáncer de mama como una enfermedad que se diseminaba de manera definida y ordenada, que inicialmente se originaba en la glándula mamaria, posteriormente en su crecimiento se extendía hacia las vías linfáticas regionales y desde allí a los vasos sanguíneos por donde se diseminaba a otros órganos. Consecuentemente definió las normas de la cirugía del cáncer de mama con base en el paradigma anatómico loco-regional del cáncer, siendo el objetivo del tratamiento extirparlo “**totalmente**”. Con el estudio de las piezas de las neoplasias se identificó una primera serie de factores de pronóstico comunes, como son el tamaño tumoral, la presencia de metástasis en los ganglios linfáticos regionales y la existencia de metástasis sistémicas¹.

Estas características se recogieron en el sistema de clasificación TNM y en otros sistemas de estadificación.

El sistema de estadificación TNM fue inicialmente ideado hace más de 50 años por Pierre Denoix en Francia² y permite clasificar a los pacientes, agrupándolos en estadios que progresan con la peor supervivencia.

A partir de entonces, se han hecho muchas revisiones por la llegada de cambios en el tratamiento. Desde la primera publicación en 1977 AJCC (American Joint Committee of Cancer) / UICC (Unión Internacional Contra el Cáncer) periódicamente han revisado y publicado el TNM hasta el momento actual, con la 8ª edición.

El AJCC y la UICC se unificaron en un único sistema de estadificación TNM que desarrollaron para la clasificación y la estadificación del cáncer³. Este sistema basa la clasificación en el tamaño del tumor o su extensión directa (T), la afectación de los ganglios linfáticos (N, de “**node**” en inglés) y cualquier metástasis a distancia (M). El sistema TNM clasifica los tumores por su extensión anatómica mediante asignaciones y luego combina estos grupos en categorías similares desde el punto de vista pronóstico denominadas estadios. Cuando incluye a un paciente en un estadio le asigna la supervivencia media de ese grupo de pacientes. Los estadios se numeran de 0 a IV en orden de expectativa decreciente de supervivencia. El estadio 0 es el carcinoma *in situ*, el estadio I es el cáncer localizado, el estadio II designa la diseminación local o regional limitada, el estadio III denota la diseminación local o regional de mayor magnitud y el estadio IV implica la presencia de metástasis a distancia. Las tendencias del estadio en el momento de la presentación se monitorean con la National Cancer Data Base (NCDB).

Las clasificaciones se establecen en los distintos momentos de estudio: clínico, anatomopatológico, post-tratamiento neoadyuvante, recidiva o autopsia.

Dentro de los factores clinicopatológicos que han definido el TNM, consideraremos los siguientes: tamaño tumoral, metástasis ganglionares regionales, metástasis a distancia y recidivas.

3. Limitaciones del TNM. Determinismo temporal y biológico.

Antes del advenimiento de la biología molecular, los factores pronósticos dominantes en el cáncer eran anatómicos porque el único tratamiento para el cáncer era la cirugía y estos factores pueden ser recogidos durante el procedimiento quirúrgico. Así, durante muchos años, todas las predicciones en los pacientes se basaban en el resultado de la cirugía como único tratamiento.

Pero se han identificado varios problemas para calcular el pronóstico con este enfoque⁴:

- 1/ La medición del cáncer con el tiempo no es precisa, porque el TNM se basa en un modelo temporal que asume una progresión continua de la enfermedad tumoral (determinismo temporal) y se mide el tiempo de esa progresión. Este determinismo temporal nos lleva a que la detección precoz aumente el periodo de tiempo de seguimiento de las pacientes y parece aumentar erróneamente el tiempo de supervivencia.
- 2/ No se puede suponer con seguridad que la biología de la enfermedad es continua y no cambia con el tiempo. La historia natural del cáncer de mama es variable y la supervivencia de pacientes que presentan el mismo estadio de la enfermedad puede ser de pocos meses o varias décadas. Dos procesos neoplásicos, morfológicamente similares, pueden comportarse con patrones biológicos de agresividad del todo diferentes. El tumor aumenta de tamaño por multiplicación de las células neoplásicas. Aproximadamente hay 1000 células neoplásicas en un acúmulo de 0,2 mm de diámetro. Para que un cáncer de mama sea clínicamente demostrable se requiere un tamaño aproximado de un centímetro, que equivale a mil millones de células tumorales. Este volumen se alcanzará en dos años si la velocidad de duplicación celular es de 23 días, en 8 años con un tiempo de duplicación de 90 días y en 17 años si el tiempo de duplicación es de 209 días. Es decir, un tumor maligno de mama puede haber llevado entre 2 y 17 años de evolución cuando se diagnostica clínicamente debido a variaciones en su velocidad de crecimiento. Pero como una vez que se detecta se extirpa, no podemos seguir su verdadera evolución en el tiempo.
- 3/ El tumor inicial, normalmente, no es lo que determina el pronóstico del paciente, sino la diseminación del mismo.
- 4/ Si una terapia es eficaz y altera la biología de la enfermedad, la progresión pronosticada ya no es válida. También se puede caer en el error de asignar a los pacientes en un estadio en el que no se recibe un tratamiento que, en cambio, sí que se administra en un estadio de peor pronóstico, resultando al final mejor supervivencia la de pacientes con un peor estadio inicial.
- 5/ La aparición de nuevos métodos diagnósticos para el estudio de la extensión tumoral en la fase clínica provoca migración de estadios cuando se comparan poblaciones no concurrentes (fenómeno de Will Rogers)⁵.

Todo esto suma problemas en la predicción del riesgo individual de cada paciente, que ya el TNM inicialmente asigna el mismo pronóstico que la media de supervivencia de los pacientes en ese estadio. Si analizáramos por separado cada paciente de ese estadio probablemente los resultados serían muy diferentes entre ellos, e incluso detectaríamos que se producen solapamientos en la supervivencia de pacientes en diferentes estadios. De hecho, las predicciones basadas en el TNM tienen baja precisión: Las curvas ROC del TNM en cáncer de mama tuvieron resultados entre 0.69 y 0.72⁶.

En conclusión: El TNM sólo no reconoce con exactitud el comportamiento biológico del cáncer en un individuo en concreto.

En los estadios iniciales la respuesta al tratamiento quirúrgico debería llevar a la curación a la mayoría de las pacientes, pero alrededor del 30% de las pacientes con ganglios negativos fallecen como consecuencia de la enfermedad. En este grupo de pacientes los dos factores pronósticos anatómicos de mayor importancia (las metástasis en los ganglios linfáticos axilares y el tamaño del tumor) no son suficientes para orientar el pronóstico.

Esta incongruencia llevó a la evolución del paradigma de Halsted a la hipótesis de Fisher, en la que no existe un patrón de diseminación ordenado y las células del tumor se propagan por embolización, vía hemática, considerando el cáncer de mama una enfermedad sistémica desde el principio.

Son importantes las interrelaciones entre el huésped y el tumor. Los ganglios linfáticos son importantes desde el punto de vista biológico y no anatómico⁷.

En este concepto de enfermedad sistémica resulta de gran importancia la valoración de otros factores pronóstico para identificar las pacientes que no presentan metástasis ganglionares regionales, pero que precisan de tratamiento sistémico adyuvante. La evaluación de otros factores pronósticos permitiría identificar a estas pacientes y establecer un plan terapéutico individualizado. Se identificaron en las piezas varios factores pronósticos histológicos para complementar la información de la estadificación TNM, destacando los siguientes: tipo histológico, grado histológico, angiogénesis, invasión linfática y vascular, márgenes de resección, componente intraductal extenso, contorno tumoral, necrosis tumoral y fibrosis y elastosis del estroma.

Sin embargo, se observó que, aunque se consideraba enfermedad sistémica, en muchas pacientes el cáncer de mama se seguía comportando como enfermedad loco-regional, controlada solo con el tratamiento quirúrgico. Estas pacientes no presentaron metástasis a distancia en su seguimiento, o lo hicieron muy tardíamente. A partir de esta información, surge la hipótesis del “**spectrum**” de Hellman, que reconoce al cáncer de mama como una enfermedad heterogénea con diferentes formas de manifestación durante su evolución, identificando grupos de pacientes que al momento del diagnóstico presentan un pequeño tumor sin metástasis ganglionares y otras con el mismo tamaño tumoral manifiestan de inicio diseminación a distancia⁸. Siguiendo esta hipótesis, la terapéutica loco-regional de nuevo adquiere importancia.

Tanto la “**teoría Halstediana**” como la “**teoría sistémica**” son restrictivas, la primera por considerar al cáncer de mama sólo como enfermedad loco-regional y la segunda por negar esta posibilidad. La hipótesis del “**spectrum**” parecería la más acorde con la experiencia clínica.

Lo cierto es que el cáncer tiene una dimensión temporal y una biológica. Nuestro uso de factores pronósticos anatómicos tiende a confundir las dimensiones temporal y biológica. Para conocer el pronóstico del paciente se deberían conocer ambas dimensiones: cuánto tiempo el tumor ha ido creciendo y su agresividad.

No podemos saber seguro cuánto tiempo ha estado creciendo, pero podemos aprender sobre su agresividad mediante la evaluación de biomarcadores moleculares.

Es importante complementar la información pronóstica aportada por las tres características del TNM, que definen la extensión de la neoplasia, con otros factores pronósticos y predictivos que reflejen el comportamiento biológico de este spectrum y su posible sensibilidad a diversas alternativas terapéuticas. Se intenta cambiar el determinismo temporal (dado por los métodos de imagen y exploración clínica) por el determinismo biológico basado en biomarcadores^{4,9}.

Estos biomarcadores deben incluir factores biológicos relacionados con las propiedades biológicas del cáncer y con su huésped.

4. Biomarcadores pronósticos y predictivos.

Los biomarcadores pronósticos de la historia natural de la enfermedad del paciente que buscamos **informan sobre la probabilidad de que la paciente muestre la enfermedad en un plazo de tiempo determinado (para determinar si necesita tratamiento). Habitualmente se conocen como factores pronósticos.**

Los biomarcadores específicos de tratamiento nos **informan de la probabilidad de que una intervención preventiva reducirá la posibilidad de que la paciente muestre la enfermedad durante un plazo de tiempo determinado (para determinar el mejor tratamiento). Habitualmente se conocen como factores predictivos**⁴.

Los biomarcadores pronósticos deben proporcionar un valor pronóstico independiente y significativo, que pueda establecerse fácilmente mediante tests clínicos¹⁰, su determinación debe ser reproducible y poder ser sometida a un control de calidad^{11,12} y los resultados deben poder ser interpretados fácilmente por el clínico y deben poseer utilidad clínica, así como presentar implicaciones terapéuticas. Sin embargo, a menudo los factores de pronóstico que caracterizan una neoplasia están interrelacionados y es difícil evaluar el significado pronóstico de cada uno de ellos de forma aislada. Los biomarcadores a estudiar son:

- Proteínas [biomarcador más utilizado, se determina mediante inmunohistoquímica (IHQ) en material parafinado].
- ADN (relativamente resistente al manejo rutinario de las muestras).
- mARN (molécula más lábil, utilizada por muchas firmas genéticas).

En el cáncer de mama, los factores pronósticos y predictivos más utilizados hoy día en la práctica clínica son morfológicos y biomarcadores: inmunobiológicos y genéticos. Se incluyen:

- ▶ Estado menopáusico de la paciente.
- ▶ Estadio de la enfermedad: TNM.
- ▶ Grado del tumor primario.
- ▶ Tipo histológico.
- ▶ Estado del receptor de estrógeno (RE) y del receptor de progesterona (RP) del tumor. Los tumores que presentan positividad para estos receptores son estirpes bien diferenciadas, menos agresivas y con un mejor pronóstico. La terapia endocrina dirigida para este tipo de tumores se divide en dos grupos de fármacos: los moduladores selectivos de los receptores de estrógenos (SERMs) y los inhibidores de la aromataasa (IA).
- ▶ Sobreexpresión o amplificación del factor de crecimiento epidérmico humano tipo 2 (HER2/neu). Entre un 15 y un 20% de todos los tumores de mama expresan este marcador y se relaciona con un fenotipo más agresivo. Los subtipos HER2 positivos y triple negativo de cáncer de mama tienen un peor pronóstico y son más propensos a recurrencia temprana y frecuente y a las metástasis, pero el subtipo HER2 positivo tiene un mejor pronóstico que el triple negativo, ya que puede beneficiarse de fármacos dirigidos contra la proteína HER2.
- ▶ Estado del Ki67, que es un índice de proliferación celular. Tiene valor pronóstico en el cáncer de mama de forma que a mayor valor de este biomarcador, menor supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global.

- ▶ Prueba del perfil genético mediante ensayo de micromatriz o reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscriptasa (por ejemplo, MammaPrint®, OncotypeDx®). Agrupando distintos patrones de expresión genética se ha intentado clasificar a los tumores mamarios en dos grandes subtipos biológicos: de bajo y alto grado y de mejor o peor firma genética.

De acuerdo con la importancia pronóstica de los biomarcadores, en el consenso internacional de expertos celebrado en St. Gallen en 2011 se definieron 4 subtipos de cáncer de mama: luminal A, luminal B (HER2 negativo o HER2 positivo), HER2 positivo y basal-like o triple negativo. Así mismo, quedaron determinadas las mejores opciones de tratamiento para cada uno de los subtipos anteriormente definidos (Tabla 5.1 Véase pág. 47). Ulteriores estudios han demostrado diferencias en los resultados de supervivencia a los 5 años entre los diferentes subtipos definidos en St. Gallen¹³.

La información aportada por las características histológicas e inmunohistoquímicas convencionales ha sido ampliada por los tests genéticos predictivos: mediante la cuantificación de ciertos genes y la aplicación de unos coeficientes de ponderación según el impacto en su valor predictivo, se han logrado los llamados test genéticos predictivos. La mayoría de tumores RE-positivo, HER2 negativo, en estadios I y II, incluyendo N1, justifican el uso del perfil genómico para una óptima toma de decisiones de terapia adyuvante.

En agosto del año 2000, Charles M. Perou y cols. publicaron la primera clasificación genómica del cáncer de mama, constatándose la existencia de varios subtipos genómicos con diferente pronóstico¹⁴.

En el año 2002, Laura van't Veer y cols. publicaron una firma de 70 genes para cáncer de mama capaz de pronosticar el curso de la enfermedad con mayor eficacia que los parámetros clínicos habitualmente utilizados (metástasis en ganglios, grado histológico). Por primera vez, se ponía de manifiesto la gran utilidad de los predictores para aplicar la genómica en el ámbito de la medicina¹⁵.

▸ SUBTIPO	▸ DEFINICIÓN	▸ TRATAMIENTO
• Luminal A	<ul style="list-style-type: none"> • Luminal A · RE y/o RP positivos · HER2 negativo · Ki 67 < 14% 	Hormonoterapia
• Luminal B	<ul style="list-style-type: none"> • Luminal B (Her2 negativo) · RE y/o RP positivos · HER2 negativo · Ki 67 > 14% • Luminal B (Her2 positivo) · RE y/o RP positivos · HER2 positivo · Cualquier Ki67 	Hormonoterapia ± citotóxicos Citotóxicos + Anti HER2 + Hormonoterapia
• HER2	<ul style="list-style-type: none"> • HER2 positivo no lum. · HER2 positivo · RE y RP negativos 	Citotóxicos + Anti HER2
• Basal-Like	<ul style="list-style-type: none"> • Triple negativo · RE y RP negativos · HER2 negativo 	Citotóxicos

RE: receptores de estrógenos, RP: receptores de progesterona.

Tabla 5.I. Definición de los subtipos determinados en el consenso de St. Gallen y las recomendaciones de tratamiento para cada uno de ellos.

Posteriormente, se han publicado otras firmas genómicas, todas ellas desarrolladas mediante el uso de predictores, algunas encaminadas a predecir el pronóstico, otras la respuesta al tratamiento o el subtipo biológico.

Los test genéticos más utilizados actualmente son MammaPrint®, OncotypeDx®, EndoPredict® y PAM50 (Prosigna®), cuyas características y utilidad pueden consultarse en el [capítulo 23](#) Véase pág. 161 de esta monografía.

Las firmas génicas muestran cambios intracelulares mientras que los parámetros del TNM muestran cambios en la composición de los tejidos (T en la glándula mamaria), (N en los ganglios linfáticos regionales), (M en los tejidos distantes). Esta nueva información pronóstica y predictiva derivada de las plataformas génicas, especialmente en los subgrupos de pacientes RE+ y RP+ necesita ser incluida en las herramientas de cálculo del pronóstico del cáncer de mama.

5. Modificaciones del TNM.

A medida que se identificaron nuevos factores pronósticos, se intentó incorporarlos en los sistemas de estadificación a fin de agrupar las lesiones con un pronóstico similar en un mismo estadio. El reto es conseguir nuevas clasificaciones del TNM que presenten información pronóstica y predictiva a un nivel de detalle superior a las anteriores para avanzar en la aplicación de tratamientos más personalizados. Se han propuesto varias modificaciones moleculares del TNM.

Veronesi propuso incluir RE, RP y HER2 status en la clasificación TNMIEO, donde además realiza modificaciones en las categorías T, N y M¹⁶.

Bagaria y cols. propusieron una clasificación TNM biológica (bTNM), en la que la inclusión de fenotipo triple negativo RE / RP / HER2 (TN) demostró mejorar la exactitud del pronóstico del TNM en su población de estudio de 1.842 pacientes con carcinoma ductal infiltrante¹⁷.

Orucevic y cols.¹⁸ evaluaron el valor del fenotipo triple negativo RE/RP/HER2 en el resultado de la estadificación TNM en una cohorte de 782 pacientes con diagnóstico de carcinoma ductal infiltrante. El estadio TNM y la edad fueron predictores de supervivencia global significativos. Sin embargo, el fenotipo triple negativo RE / PR / HER2 (TN) solo empeoró significativamente el pronóstico/supervivencia en los estadios III y IV del TNM pero no en estadios TNM inferiores (estadios I y II). También realizaron el análisis de supervivencia Kaplan-Meier y Regresión Cox en las 782 pacientes con carcinoma ductal infiltrante para comparar el potencial predictivo y la posible mejora de la precisión pronóstica de un nuevo sistema bTNM propuesto, demostrando que el estadio TNM/estadio anatómico y la edad fueron predictores significativos de supervivencia global, pero los subtipos del carcinoma de mama no fueron predictivos de la supervivencia global cuando se utilizó la clasificación de subgrupos de cinco grupos RE/RP/HER2 recomendado por el Panel de Consenso de 2011 de St. Gallen. Estos datos apoyan el TNM tradicional como una herramienta pronóstica relevante y también demuestran que los biomarcadores podrían mejorar la precisión de estadificación TNM principalmente en estadios avanzados.

Por tanto, Orucevic¹⁸ recomienda que deben realizarse análisis sistemáticos retrospectivos de estos factores antes de que los biomarcadores se incorporen completamente en el sistema de clasificación TNM (bTNM), y que la validación de datos de estudios como los de Veronesi y Bagaria^{16,17} sobre la importancia pronóstica de la RE, RP y los biomarcadores HER2 en el estadio TNM, deben poder realizarse en diferentes entornos de estudio, tanto a nivel nacional como internacional, antes de que cualquier propuesta de modificación biológica del TNM sea elegida frente a bTNM.

La inclusión del método OSNA en la evaluación del factor N podría ser también necesaria, desde que ha demostrado su capacidad diagnóstica y pronóstica, con un nivel de evidencia I (al menos un ensayo clínico controlado y aleatorizado diseñado de forma apropiada USPSTF). El estudio PLUTTO nos informa acerca de su capacidad predictiva en una cohorte de 1.020 pacientes consecutivas con un seguimiento de 5 años.

Otra herramienta pronóstica es el Índice pronóstico de Nottingham Plus (+) (NPI+). Se identificaron seis factores pronóstico clínico-patológicos de importancia para predecir la supervivencia global: N (número de ganglios), St (estadio), T (tamaño), M (mitosis), LVI (invasión linfovascular) y receptor de progesterona. Tras identificar estos factores la población fue asignada en 7 clases moleculares: clase 1 (luminal A); clase 2 (luminal N); clase 3 (luminal B); clase 4 (basal p53 alterado); clase 5 (basal p53 normal); clase 6 (HER2+/RE+) y clase 7 (HER2+/RE-). El NPI+ se utilizó entonces para predecir el resultado en las diferentes clases moleculares. El posterior análisis con curvas de Kaplan-Meier mostró una importante mejoría altamente significativa en la estratificación de pacientes comparado con el NPI previo¹⁹.

6. Justificación de los cambios en el nuevo TNM / 8ª Edición.

Actualmente el UICC's TNM Prognostic Factors Project tiene un método para la evaluación de propuestas de modificación de la clasificación TNM. El método recomienda la aproximación de forma sistemática a la revisión tanto de propuestas de los investigadores como de una búsqueda bibliográfica anual de artículos que recomienden mejoras para el TNM. Ambos son evaluados por un panel de expertos de la UICC así como miembros del Comité de Factores Pronósticos del TNM. En la 8ª edición (ver anexo I) se realizan cambios intentando conseguir un valor pronóstico mucho más personalizado²⁰.

Se reconoce que además de la extensión anatómica de la enfermedad muchos factores tienen un impacto significativo en la predicción de los resultados. En esta 8ª edición el término “estadio” se ha utilizado para definir la extensión anatómica de la enfermedad, mientras que el término “grupo pronóstico” se ha utilizado para las clasificaciones que incorporan otros factores pronósticos. Ya en la segunda edición de la clasificación UICC TNM de tumores malignos, se desarrollaron tablas en las que se identificaban factores pronósticos de supervivencia en el momento del diagnóstico y se consideraron tres tipos: esenciales, adicionales o nuevos.

Las tablas que han sido actualizadas e incorporadas a la novena edición del Manual de Oncología Clínica de la UICC se reproducen en esta 8ª edición del TNM.

La 8ª edición intenta sintetizar de forma más completa estadios con factores pronósticos relevantes identificados a partir de múltiples conjuntos de datos basados en registros y ensayos clínicos. Después de revisar cientos de publicaciones, el panel de expertos en mama decidió incluir los receptores de estrógeno y de progesterona, el estatus HER2 y el grado en la creación de los grupos pronósticos, combinando con tumor, ganglio y metástasis (TNM), variables definidas en la “**etapa anatómica**”. Se incorporó información de paneles de múltiples genes para pacientes con tumores T1-2 NO MO, RE positivos, HER2 negativos. Con la combinación de estas ocho variables (T, N, M, grado, RE, RP, HER2 y multi-gene panel score), la complejidad de la estadificación ha aumentado, creando varios cientos de posibles combinaciones. También se elimina el carcinoma lobular *in situ* como un diagnóstico de cáncer de mama.

Como consecuencia de la inclusión de biomarcadores en la estadificación del cáncer de mama, más del 40% de las pacientes con enfermedad en estadio I-III fueron reclasificadas en una etapa diferente a la aplicada a los criterios de la 7ª edición, con una distribución casi igual entre las pacientes sobrestadificadas (20,0%) e infraestadificadas (20,6%). Dentro de los grupos de estadios restantes, el 9,8% de las pacientes fueron reasignadas a más de un estadio superior o inferior que según los criterios de 7ª edición. Estos cambios en la estadificación reflejan el impacto significativo de las variables pronósticas que los médicos clínicos han reconocido desde hace tiempo como importantes para determinar el pronóstico y la terapia²¹. Este modelo asume que las pacientes y los médicos siguen las pautas de tratamiento.

El Proyecto TNM de la UICC con la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer y el Instituto Nacional del Cáncer han desarrollado un nuevo sistema de clasificación “**TNM esencial**” que puede usarse para recolectar datos cuando no se dispone de información completa en los registros de cáncer en los países de ingresos bajos y medianos.

7. Conclusión.

Hoy día el tratamiento del cáncer de mama ha de ser individualizado, valorando el TNM y las características biológicas del tumor como factores pronósticos y factores predictivos de respuesta. Debe valorarse cada caso de forma individualizada, teniendo en cuenta los diversos criterios, poseyendo en este proceso gran importancia la experiencia personal de cada médico.

El TNM, con sus nuevas modificaciones, tendrá que demostrar su utilidad en los próximos años frente a otras herramientas pronósticas bien diseñadas como el NPI Plus, funcionando como una herramienta asequible, sencilla y reproducible que permita seguir clasificando a las pacientes de forma universal para la comunicación entre profesionales sanitarios e investigadores. Para ello debe incluir la valoración de nuevos factores pronósticos y predictivos independientes con algoritmos matemáticos para la correcta inclusión de las pacientes en sus estadios.

☞ Take-Home messages: Ideas a retener.

- Antes del advenimiento de la biología molecular, los factores pronósticos dominantes en el cáncer eran anatómicos porque el único tratamiento para el cáncer era la cirugía y estos factores eran recogidos durante el procedimiento quirúrgico. Dieron origen al sistema de estadificación TNM. Pero el cáncer tiene una dimensión temporal y una biológica y para conocer el pronóstico del paciente se deberían conocer ambas dimensiones: cuánto tiempo el tumor ha ido creciendo y su agresividad. No podemos saber seguro cuánto tiempo ha estado creciendo, pero podemos aprender sobre su agresividad mediante la evaluación de biomarcadores moleculares.
- Hoy día el tratamiento del cáncer de mama ha de ser individualizado, complementando la información pronóstica aportada por las tres características del TNM con biomarcadores como los RE y RP, expresión de HER2, Ki67 y perfiles genéticos.
- El TNM con sus nuevas modificaciones (8ª edición) tendrá que mantener su utilidad funcionando como una herramienta asequible, sencilla y reproducible que permita seguir clasificando a las pacientes de forma universal para la comunicación entre profesionales sanitarios e investigadores. Para ello debe incluir la valoración periódica de nuevos factores pronósticos y predictivos independientes, con algoritmos matemáticos para la inclusión de las pacientes en sus estadios.

📖 Bibliografía:

1. Halsted WS. The Results of Radical Operations for the Cure of Carcinoma of the Breast. *Annals of surgery*. 1907;46(1):1-19.
2. Gospodarowicz M, Benedet L, Hutter RV, et al. History and international developments in cancer staging. *Cancer Prev Control* 1998;2(6):262-8.
3. Beahrs OH. Staging of cancer. *CA Cancer J Clin* 1991;41(2):121-5.
4. Burke HB. Predicting Clinical Outcomes Using Molecular Biomarkers. *Biomark Cancer*. 2016;8:89-99.
5. Tan GH, Bhoo-Pathy N, Taib NA, et al. The Will Rogers phenomenon in the staging of breast cancer - does it matter? *Cancer Epidemiol*. 2015;39(1):115-7.
6. Burke. Statistical analysis of complex systems in biomedicine. In: Lenz H e, editor. *Learning from Data: Artificial Intelligence and Statistics V* New York. Springer-Verlag; 1996. p. 251-8.
7. Fisher ER, Anderson S, Redmond C, et al. Ipsilateral breast tumor recurrence and survival following lumpectomy and irradiation: pathological findings from NSABP protocol B-06. *Semin Surg Oncol*. 1992;8(3):161-6.
8. Heimann R, Hellman S. Aging, progression, and phenotype in breast cancer. *J clin Oncol*. 1998;16(8):2686-92.
9. Burke HB. Outcome prediction and the future of the TNM staging system. *J Natl Cancer Inst*. 2004;96(19):1408-9.
10. Rapp SR, Feldman SR, Graham G, et al. The Acne Quality of Life Index (Acne-QOLI): development and validation of a brief instrument. *Am J Clin Dermatol* 2006;7(3):185-92.
11. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer (unabridged version). *Arch Pathol Lab Med* 2010;134(7):e48-72.
12. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*. 2013;31(31):3997-4013.
13. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol* 2013;24(9):2206-23.
14. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406(6797):747-52.
15. Van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature*. 2002;415(6871):530-6.
16. Veronesi U, Zurrada S, Viale G, et al. Rethinking TNM: a breast cancer classification to guide to treatment and facilitate research. *Breast J* 2009;15(3):291-5.
17. Bagaria SP, Ray PS, Sim MS, et al. Personalizing breast cancer staging by the inclusion of ER, PR, and HER2. *JAMA Surg*. 2014;149(2):125-9.
18. Orucevic A, Chen J, McLoughlin JM, et al. Is the TNM staging system for breast cancer still relevant in the era of biomarkers and emerging personalized medicine for breast cancer – An institution's 10-year experience. *Breast J* 2015;21(2):147-54.
19. Rakha EA, Soria D, Green AR, et al. Nottingham Prognostic Index Plus (NPI+): a modern clinical decision making tool in breast cancer. *Br J Cancer* 2014;110(7):1688-97.
20. Amin MB, Greene FL, Edge SB, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin*. 2017;67(2):93-9.
21. Winchester DJ. Important changes made in the AJCC Cancer Staging Manual, Eighth Edition. *Bulletin American College of Surgeons*. Jan 2017. p75-6.

► Capítulo 6

Tamaño tumoral.

Francesc Tresserra Casas, Ivonne Vázquez de las Heras.

El tamaño del carcinoma infiltrante es uno de los principales factores pronóstico en el cáncer de mama, junto con el estado ganglionar y las metástasis a distancia, y su determinación es imprescindible para precisar la clasificación TNM¹.

El tamaño de la lesión se establece en el examen anatomopatológico, pues la determinación clínica o radiológica pueden no ser exactas², midiendo los dos diámetros tumorales máximos en el transcurso del estudio macroscópico del espécimen (Fig. 6.1). La medida del tumor debe realizarse de nuevo en el transcurso del estudio microscópico (Fig. 6.2) y establecer como medida del tumor la mayor de las dos mediciones. Habitualmente en las lesiones pequeñas, la medida microscópica suele ser más exacta y en las grandes lo es la macroscópica^{1,2}.

Con las medidas de la lesión infiltrante puede precisarse la categoría T del TNM¹ (Tabla 6.I).

► Tumor primario (T)
<ul style="list-style-type: none"> • pT0: Sin evidencias de tumor primario. • pTis: Carcinoma <i>in situ</i> incluyendo la enfermedad de Paget del pezón sin carcinoma infiltrante asociado y/o carcinoma <i>in situ</i> (ductal o lobulillar) en el parenquima mamario subyacente. • pT1: Tumor de ≤ 20 mm de diámetro máximo. <ul style="list-style-type: none"> - pT1mi: Tumor de ≤ 1 mm de diámetro máximo (microinvasión). - pT1a: Tumor de > 1 mm pero ≤ 5 mm de diámetro mayor. - pT1b: Tumor de > 5 mm pero ≤ 10 mm de diámetro mayor. - pT1c: Tumor de > 10 mm pero ≤ 20 mm de diámetro mayor. • pT2: Tumor de > 20 mm pero ≤ 50 mm de diámetro mayor. • pT3: Tumor de > 50 mm de diámetro máximo. • pT4: Tumor de cualquier tamaño con extensión directa a la pared torácica y/o piel (ulceración o nódulos cutáneos). Nota: la invasión única de la dermis no califica al tumor de pT4.

Tabla 6.I. Categoría T de la clasificación TNM según el tamaño de la lesión.

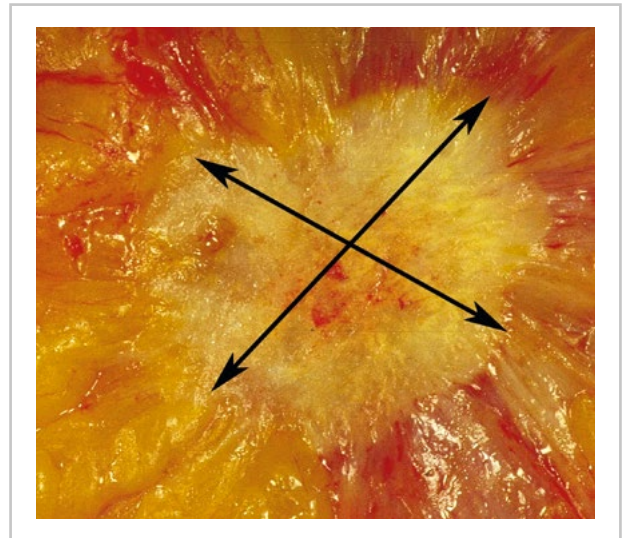


Figura 6.1. Determinación macroscópica del tamaño tumoral.

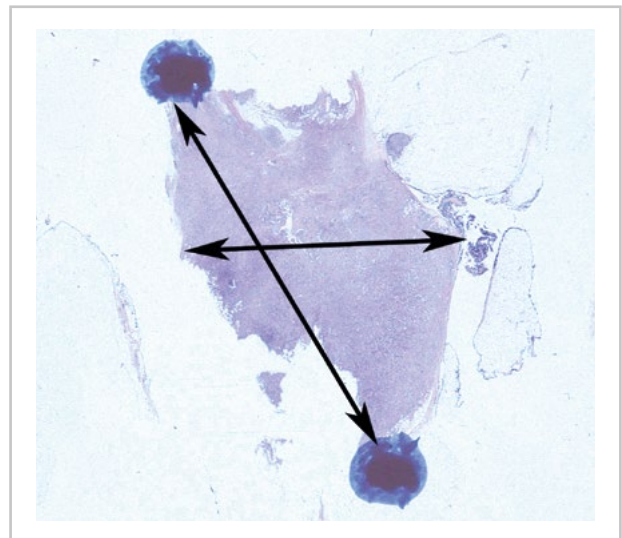


Figura 6.2. Determinación microscópica del tamaño tumoral.

Al establecer el tamaño tumoral han de tenerse en cuenta una serie de situaciones especiales^{1,3}:

▶ **Carcinoma infiltrante e “in situ”:**

La medida tumoral incluye solamente la extensión de la lesión infiltrante sin considerar en el tamaño el carcinoma “in situ” que pueda rodearlo.

▶ **Carcinoma pequeño adyacente a la zona de biopsia por punción previa:**

En estas ocasiones es conveniente comparar el tamaño de la lesión obtenido en la biopsia previa y en la actual con el tamaño que ofrecen las pruebas de imagen y considerar el que más se aproxima. En algunas ocasiones, sobre todo cuando se utiliza la biopsia asistida por vacío, se escinde toda la lesión por lo que al hallarse en múltiples fragmentos, es difícil establecer el tamaño exacto². Nunca deben de sumarse los tamaños de la biopsia previa y del espécimen de resección.

▶ **Carcinoma infiltrante múltiple:**

Se tendrá en consideración el tamaño del foco infiltrante mayor. No deben de sumarse los tamaños de distintos focos si estos están separados por parénquima sano. Para especificar que hay múltiples focos se añade el sufijo (m) a la categoría T. En muchas ocasiones los focos tumorales están muy próximos, para ello es imprescindible un cuidadoso examen macroscópico de la zona de separación entre ambos para constatar que no está afectada.

▶ **Carcinoma infiltrante previamente seccionado:**

Cuando en el transcurso de la intervención el tumor se ha seccionado y está presente en más de un fragmento tisular, es difícil establecer la medida exacta que en ninguna ocasión ha de ser la suma de los tamaños². Si la lesión contacta con el margen debe de clasificarse como Tx, si no, se recomienda dar el tamaño máximo y especificar que la lesión puede ser mayor.

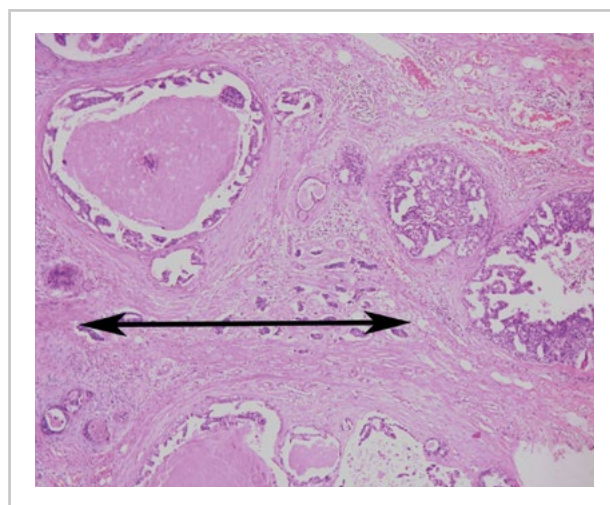


Figura 6.3. Carcinoma microinfiltrante.

▶ **Carcinoma intraductal con microinfiltración:**

Se considera cuando el foco infiltrante mide 1 mm o menos (Fig. 6.3). Cuando, en el contexto de un carcinoma intraductal, hay más de un foco, es conveniente especificar el número de focos, una estimación de este número o bien señalar que el número es muy numeroso como para especificarlo.

▶ **Carcinoma lobulillar:**

En muchas ocasiones es multifocal o multicéntrico y con un patrón de infiltración difuso y pobremente delimitado. Por su tamaño, muchas veces, es conveniente correlacionarlo con las pruebas de imagen y llevar a cabo un exhaustivo mapeo de las zonas macroscópicas de donde se toman las muestras para el examen microscópico, de forma que se establezca cuales tienen tumor y cuales no y poder determinar la extensión de la lesión^{2,4,5}.

▼ Tamaño tras tratamiento neoadyuvante.

El tratamiento neoadyuvante (TNA), que se ha utilizado durante décadas para el manejo del carcinoma de mama localmente avanzado o en el carcinoma inflamatorio, se indica cada vez más como tratamiento en estadios iniciales. Múltiples estudios demuestran que la respuesta patológica del tumor y de ganglios linfáticos al TNA son importantes predictores tanto de recurrencia local como de supervivencia a largo plazo. Además, la respuesta completa patológica es un objetivo a alcanzar para determinar la eficacia de nuevos agentes en los estudios clínicos.

La evaluación patológica de una pieza quirúrgica tras TNA debe asegurar varios puntos, entre ellos que la cirugía es adecuada, es decir, identificar el lecho tumoral y la valoración de los márgenes quirúrgicos; evaluar los factores pronósticos como son documentar la respuesta patológica completa o confirmar el tamaño/extensión del tumor residual y el estudio microscópico de la celularidad del tumor residual. Para ello, se recomienda determinar el tamaño tumoral antes de iniciar TNA, combinando la información clínica y radiológica, dado que algunos sistemas de evaluación de respuesta al tratamiento requieren de su conocimiento. Para localizar el área a estudiar, a parte de la correlación de los hallazgos clínicos y radiológicos, el marcaje radiológico de esta zona previo al inicio del tratamiento es de gran ayuda para la valoración histológica posterior. No obstante, aunque no se haya marcado la zona, ésta es habitualmente reconocible como un área fibrosa gomosa aunque en ocasiones resulta muy difícil su valoración macroscópica. Por lo tanto, para la correcta evaluación del lecho tumoral se precisa de la correcta localización y del posterior muestreo de éste⁶⁻⁹.

Histológicamente, el tamaño/extensión tumoral es frecuentemente difícil de valorar tras TNA. Básicamente hay dos patrones de respuesta tumoral tras el tratamiento: disminución concéntrica o en forma de nidos aislados, por lo que el carcinoma residual puede estar presente como pequeños focos esparcidos por un lecho tumoral mal definido. Además del efecto sobre el tamaño tumoral, el TNA a menudo tiene un profundo efecto sobre la celularidad. Generalmente la reducción del tamaño tumoral se relaciona con la reducción de la celularidad, no obstante, el tamaño tumoral puede no disminuir, pero la

celularidad puede estarlo marcadamente. La comparación entre ellas es la clave para algunos sistemas de clasificación de respuesta al tratamiento, como el de Miller-Payne. No obstante, debemos tener en cuenta que la celularidad tumoral es frecuentemente heterogénea, y la biopsia previa al tratamiento no ser representativa del tumor completo.

Aunque se han descrito múltiples sistemas para la valoración de la lesión residual (Chevalier, Sataloff, Bonnadonna, Smith, que utilizan criterios cualitativos parecidos para definir grupos de respuesta)¹⁰, los más utilizados en la práctica diaria son: el sistema RCB (Residual Cancer Burden), el sistema de Miller-Payne y el sistema utilizado por American Joint Committee on Cancer/ Union for International Cancer Control (AJCC/UICC). Todos ellos tienen sus ventajas e inconvenientes y proporcionan una definición diferente del tamaño tumoral residual.

► El sistema RCB¹¹ es una herramienta on-line:

🌐 http://www.manderson.org/breastcancer_RCB

Reproducible y validada con estudios a largo plazo, que no tiene en cuenta el tamaño tumoral previo al tratamiento, entre otros datos. No obstante, ofrece muchas ventajas a la hora de valorar casos donde la heterogeneidad de la respuesta al tratamiento es importante. Este sistema combina los hallazgos del tamaño tumoral en el lecho tumoral (mediante la determinación de las dos dimensiones mayores del área residual donde encontramos carcinoma invasivo, que no necesariamente deben ser contiguos), el porcentaje de celularidad en el tumor residual, metástasis en ganglios linfáticos loco-regionales y el porcentaje de carcinoma “*in situ*” en el lecho tumoral, dando lugar a un score que permite clasificar la respuesta:

- **RCB-0:** respuesta completa (score 0)
- **RCB-I:** enfermedad residual mínima (score >0-1.35)
- **RCB-II:** enfermedad residual moderada (score >1.35-3.2)
- **RCB-III:** enfermedad residual extensa (score > 3.2)

► El sistema de Miller-Payne¹²:

Compara la reducción en la celularidad maligna entre pre y post-tratamiento. Es una valoración subjetiva y no tiene en cuenta el tamaño tumoral previo ni tras tratamiento. Se basa en la determinación del cambio de la densidad celular en el tumor en relación con la observada en la biopsia con aguja previa a tratamiento. Estadifica por separado el estado de los ganglios linfáticos, pero no tiene en cuenta su estado previo al TNA.

► **G1:** Cambios celulares mínimos sin reducción de la densidad celular.

► **G2:** Disminución discreta de la celularidad tumoral infiltrante inferior al 30% de la masa tumoral.

► **G3:** Disminución significativa de la celularidad tumoral infiltrante entre el 30-90% de la masa tumoral.

► **G4:** Disminución marcada de la celularidad tumoral infiltrante mayor del 90% de la masa tumoral, con persistencia exclusiva de focos microscópicos.

► **G5:** Ausencia de celularidad tumoral infiltrante.

► El sistema TNM¹:

El estadiaje T patológico tras TNA (ypT) viene determinado por el tamaño. El factor más importante es determinar el mayor foco contiguo de carcinoma invasivo, con el modificador “m” en caso de múltiples focos separados por tejido fibroso/adiposo. Esta medida no debe incluir focos de fibrosis del lecho tumoral. De manera adicional se puede dar información de la disminución de la celularidad tumoral. El sistema TNM tiene en cuenta, es decir, incluye en el estadiaje, el estado ganglionar (ypN). No obstante, el ypN no discrimina entre las pacientes que previamente al TNA tenían afectación ganglionar y han respondido al tratamiento de las que aparentemente eran negativas desde el diagnóstico. La respuesta patológica se clasifica, según TNM (8ª edición)¹³, en respuesta completa (pRC), respuesta parcial (pRP) o no respuesta (pNR).

► **pRC o ypTONO o ypTisNO:** Respuesta completa patológica. Se define como:

- Ausencia de carcinoma invasivo en la mama y en los ganglios linfáticos.
- La presencia de carcinoma “*in situ*” en ausencia de carcinoma invasivo.

► **pRP:** Descenso de la categoría T o N o en ambos, comparado con la clasificación clínica previa al tratamiento y sin aumento tanto en la T como en la N.

► **pNR:** Sin cambios aparentes en la categoría T o N cuando se compara con el estadiaje clínico o bien un aumento en la categoría T o N en el examen patológico.

Una excepción en el sistema TNM es que si el tumor fue clasificado como inflamatorio (cT4d) previamente al TNA, seguirá siendo clasificado como tal tras el tratamiento, incluso en el caso de resolución completa de los cambios inflamatorios.

▼ Correlación con métodos diagnósticos de imagen.

La evaluación preoperatoria del tamaño tumoral es importante de cara a la valoración del tratamiento quirúrgico, especialmente en los casos donde se plantea uno de tipo conservador. La evaluación inicial del tamaño y extensión tumoral recae en la exploración clínica y en las técnicas de imagen.

En cuanto a las técnicas de imagen, el Colegio Americano de Radiología (ACR) proporciona unas guías generales para informar las diferentes pruebas radiológicas [mamografía (MG), ecografía mamaria (US) y resonancia magnética (RM)], en el que debe constar, entre otras determinaciones, la medida del tumor primario. Se debe indicar, como mínimo, el diámetro máximo en el plano correspondiente. Recomiendan además que si éste es ligeramente menor o mayor al límite dado para la clasificación T, el tamaño debe redondearse, excepto para tamaños entre 1 y 1.4 mm. que deben considerarse de 2 mm., porque redondear a menos clasificaría la lesión como carcinoma microinfiltrante¹.

No obstante, la estimación del tamaño tumoral con estudios radiológicos puede ser no del todo exacta por diferentes factores. Uno de ellos, por las características propias de la mama: un estudio realizado por Berg et al.¹⁴ demuestra que, en mamas no grasas, la ecografía y la resonancia eran más sensibles que la mamografía para el estudio de carcinomas invasivos, pero ambos estudios pueden sobreestimar el tamaño tumoral. Otros factores se relacionan con la técnica en sí: A veces no pueden distinguir entre carcinoma infiltrante del proceso inflamatorio o desmoplásico que acompaña en ocasiones los tumores, sobreestimando su medida o incluso pueden infraestimarla, por lo que múltiples estudios han evaluado la exactitud de la estimación radiológica del tamaño tumoral.

Haraldsdóttir et al.¹⁵ estudian un total de 267 carcinomas invasivos por los tres métodos radiológicos, observando que la correlación entre el tamaño tumoral y el histológico es débil. Todos los métodos infraestiman el tamaño en casos de tumores grandes. En cuanto a la sobreestimación, es más frecuente en la RM comparado con la US. Jiang YZ et al.¹⁶ concluyen que los estudios de imagen tienden a sobreestimar

el tamaño de la lesión. Los autores proporcionan una serie de razones que pueden inducir estos resultados: La inflamación o edema alrededor del tumor, el flujo de sangre o bien que la lesión una vez reseca puede encogerse y disminuir su tamaño.

En general, de todas las técnicas radiológicas, la RM es la que mejor correlaciona el tamaño ofrecido por ésta y el patológico, aunque una sobreestimación significativa se observa, sobre todo, en tumores mayores de 2 cm.

La US es un método diagnóstico indispensable en la valoración de la patología mamaria. No obstante, la subjetividad en la estimación en la US ha sido bien documentada. Diferentes estudios confirman que la US puede infraestimar el tamaño tumoral, por lo que se sugiere que es importante incluir el “halo” o el ribete alrededor de los tumores infiltrantes para disminuir el riesgo de infraestimación del tamaño. Además, el componente “*in situ*”, que acompaña en ocasiones al infiltrante, tiene unos márgenes poco definidos por lo que son difíciles de valorar. Otros autores indican que si el tumor excede el tamaño del transductor puede dificultar su medida¹⁷.

Algunos autores observan una concordancia entre el tamaño tumoral valorado por las técnicas de imagen y el tipo histológico de manera que:

- ▶ Carcinoma infiltrante de tipo no especial (ductal) puede ser medido de manera correcta con las tres técnicas, observando que la RM y la MG son las más exactas y que con la US puede infraestimarse el resultado.
- ▶ Carcinoma infiltrante de tipo no especial (ductal) que se acompañe de extenso componente “*in situ*” puede ser medido de manera más precisa mediante la RM. La US tiende a infraestimar de manera significativa el tamaño tumoral.
- ▶ El carcinoma ductal “*in situ*” puede ser estadiado de manera precisa mediante la MG. La MG junto con la RM no muestran variaciones significativas comparado con la histología.
- ▶ El carcinoma lobulillar infiltrante es medido de manera más precisa mediante la RM y la MG. La US tiende a infraestimar de manera significativa el tamaño tumoral¹⁷.

☞ Take-Home messages: Ideas a retener.

- El sistema TNM, desarrollado por el American Joint Committee on Cancer/Union for International Cancer Control es el más usado para estadiar el cáncer de mama y ha sido recientemente revisado. Combina y estratifica la información sobre el tamaño tumoral, el estado de los ganglios linfáticos y la presencia o ausencia de metástasis a distancia, lo que finalmente clasifica la enfermedad en cinco estadios (0, I, II, III, IV), proporcionando una estimación del pronóstico de la enfermedad. El tamaño tumoral y la afectación ganglionar son, por tanto, la base del sistema TNM.
- El tamaño tumoral es el factor pronóstico más importante tras la afectación ganglionar, con muy buena correlación con la incidencia de metástasis ganglionares y tasa de supervivencia, por lo que su determinación debe ser precisa y determinarse la dimensión mayor.
- A medida que aumenta el tamaño tumoral (y/o el número de ganglios afectados) la supervivencia a 5 años disminuye progresivamente, datos confirmados por los estudios realizados por el Colegio Americano de Cirugía.
- Finalmente, conviene destacar que existe una relación entre el tamaño tumoral y la probabilidad de afectación ganglionar, dado que esta última refleja la capacidad del tumor para extenderse, es un indicador de tendencia a metastatizar, aunque este potencial no es el mismo en todos los tumores.

☞ Bibliografía:

1. Amin MB. AJCC Cancer Staging. Springer International Publishing, 2017.
2. Varma S, Ozerdem U, Hoda SA. Complexities and challenges in the pathologic assessment of size (T) of invasive breast carcinoma. *Adv Anat Pathol*. 2014;21(6):420-32.
3. Lester SC, Bose S, Chen YY, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with invasive carcinoma of the breast. Versión 3.3.0.0. Colegio Americano de Patólogos. Actualizado en enero 2016. Consultado en Enero 2017. <http://www.cap.org/ShowProperty?nodePath=/UCMCon/Contribution%20Folders/WebContent/pdf/cp-breast-invasive-13protocol-3200.pdf>
4. Adams AL, Dabbs DJ. Commonly encountered dilemmas in breast cancer reporting and staging. *Semin Diagn Pathol* 2012;29(3):109-15.
5. Ellis IO, Coleman D, Wells C, et al. Impact of a national external quality assessment scheme for breast pathology in the UK. *J Clin Pathol*. 2006;59(2):138-45.
6. Park CK, Jung WH, Koo JS. Pathologic evaluation of breast cancer after neoadjuvant therapy. *J Pathol Transl Med* 2016;50(3):173-80.
7. Bossuyt V, Provenzano E, Symmans WF, et al. Recommendations for standardized pathological characterization of residual disease for neoadjuvant clinical trials of breast cancer by the BIG-NABCG collaboration. *Ann Oncol* 2015;26(7):1280-91.
8. Provenzano E, Bossuyt V, Viale G, et al. Standardization of pathologic evaluation and reporting of postneoadjuvant specimens in clinical trial of breast cancer: recommendations from an interantional working group. *Mod Pathol* 2015; 28(9):1185-201.
9. Pinder SE, Provenzano E, Earl H, et al. Laboratory handling and histology reporting of breast specimens from patients who have received neoadjuvant chemotherapy. *Histopathology* 2007;50 (4):409-17.
10. Tresserra F, Martínez MA, González-Cao M, et al. Respuesta patológica a la quimioterapia neoadyuvante: correlación entre dos sistemas de gradación histológica. *Rev Senol Patol Mamar* 2013;26:77-84.
11. Symmans WF, Peintinger F, Hatzis C, et al. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 2007;25(28):4414-22.
12. Ogston KN; Miller ID, Payne S, et al. A new histological grading system to assess response of breast cancer to primary chemotherapy: prognostic significance and survival. *Breast* 2003;12(5):320-7.
13. Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C. UICC. TNM classification of malignant tumours. Eighth edition. Wiley Blackwell: Oxford;2017:151-60.
14. Berg WA, Gutierrez L, NessAiver MS, et al. Diagnostic accuracy of mammography, clinical examination, US and MR imaging in preoperative assessment of breast cancer. *Radiology* 2004;233(3):830-49.
15. Haraldsdóttir KH, Jónsson P, Halldórsdóttir AB, et al. Tumor size of invasive breast cancer on magnetic resonance imaging and conventional imaging (mammogram/ultrasound): comparison with pathological size and clinical implications. *Scand J Surg* 2017;106(1):68-73.
16. Jiang YZ, Xia C, Peng WT, et al. Preoperative Measurement of breast cancer overestimates tumor size compared to pathological measurement. *PLoS One* 2014;9(1):e86676.
17. Gruber IV, Rueckert M, Kagan KO, et al. Measurement of tumour size with mammography, sonography and magnetic resonance imaging as compared to histological tumour size in primary breast cancer. *BMC Cancer* 2013;13:328.
18. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer* 1989;63(1): 181-7.

► Capítulo 7

Clasificación histológica del cáncer de mama.

Esther Sanfeliu Torres, Vicente Marco Molina, Francesc Tresserra Casas.

La clasificación histológica del cáncer de mama se basa en las características fenotípicas del tumor, que son reflejo de complejas alteraciones moleculares de las que tenemos un conocimiento parcial.

Permite definir tipos tumorales de características biológicas y pronóstico distinto. Algunos tipos son de pronóstico excelente (ej. carcinoma tubular, carcinoma adenoide quístico) y otros son especialmente agresivos (ej. carcinoma sarcomatoide). Sin embargo, el pronóstico de los tipos histológicos más frecuentes debe ser establecido en base a factores relacionados con la proliferación celular (grado histológico, plataformas moleculares), factores predictivos de respuesta (receptores hormonales y HER2) y estadiaje tumoral.

▼ Carcinoma invasivo de tipo no específico (NST).

Se trata del carcinoma ductal invasivo no especial (CDI NOS), el más común (oscilando entre 40-70%), que puede afectar a cualquier edad y en el que su diagnóstico es por exclusión, al no reconocer ningún tipo específico.

Histológicamente es un tumor de márgenes infiltrantes, con diferentes patrones arquitecturales, aspectos celulares, figuras de mitosis y grado histológico. Más del 80% son ductales infiltrantes y raramente se acompañan de infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario estromal. El 70-80% expresan receptores hormonales y el 15% son HER2 positivos.

Tienen una supervivencia a los 10 años del 35-50%, dependiendo de las variables clásicas de pronóstico en el cáncer de mama.

Se define como Carcinoma Mixto cuando se observan diferentes tipos de carcinoma, siendo al menos >50% de NST.

Existen algunas variantes raras como son:

- ▶ Carcinoma pleomórfico (frecuente invasión vascular y afectación ganglionar o a distancia en >50%. RH negativos y algunos HER2+).
- ▶ Carcinoma con células gigantes de tipo osteoclasto (OCGs) estromales (CD68+).
- ▶ Carcinoma con características coriocarcinomas (niveles séricos de hormona gonadotrofina coriónica elevados).
- ▶ Carcinoma con características melanocíticas (extremadamente raro, asocia CDI NST con melanoma maligno; no es sinónimo a depósitos melánicos ni a expresión de marcadores melánicos).

▼ Carcinoma tubular.

Es un tipo especial, puro representa el 2% y el 10-20% son multifocales.

Histológicamente son túbulos pequeños, bien formados, ovalados o redondeados y angulados, organizados al azar, con ausencia de células mioepiteliales u ocasional membrana incompleta, en estroma desmoplásico. Estos túbulos están revestidos por una monocapa de células luminales, con núcleo pequeño-mediano, regular, con mínimo pleomorfismo, nucléolo incipiente, escasas mitosis y posibilidad de "snots" apicales. Pueden asociarse a focos de atipia de epitelio plano, carcinoma intraductal de bajo grado o cicatriz radial. Expresan receptores hormonales, con negatividad para HER2, EGFR y p53.

Tienen un pronóstico excelente, ya que son de pequeño tamaño, con rara invasión vascular y afectación ganglionar, descubiertos en cribado.

A nivel genético muestran un patrón molecular luminal A y se pueden encontrar algunas alteraciones cromosómicas.

▼ Carcinoma cribiforme.

Representa 0,3-0,8% y puede aumentar hasta 4%. Afecta preferentemente a mujeres entre 53-58 años.

Histológicamente muestran un patrón cribiforme en >90%, formado por ductos angulados, bien definidos, con frecuentes “snots” apicales y secreción de mucina y/o microcalcificaciones intraluminales, situados en abundante estroma fibroblástico con ocasionales células gigantes tipo osteoclasto. Las células son de núcleo pequeño o mediano, con moderado pleomorfismo y raras mitosis. Hasta 80% se acompañan de carcinoma intraductal cribiforme. Expresan receptores hormonales y son HER2 negativos.

El pronóstico es favorable, aunque es peor en los casos mixtos y pueden observarse metástasis ganglionares hasta en 14,3%.

A nivel genético muestran un patrón molecular luminal A.

▼ Carcinoma lobulillar infiltrante (CLI).

Representan 5-15% de los carcinomas infiltrantes. La edad media de las pacientes es superior a la de los carcinomas de tipo NST, alrededor de 60 años.

La forma clásica se caracteriza por presentar células poco cohesivas dispuestas en hileras (patrón en fila india). Los núcleos son redondeados y de disposición excéntrica. Con frecuencia se observa una pequeña vacuola intracitoplásmica¹.

► Variantes histológicas:

Sólido, alveolar, pleomórfico, tubulo-lobulillar, mixto.

En algunas variantes se observan células en anillo de sello, células histiocitoides y células apocrinas.

El tipo clásico parece tener mejor pronóstico que las variantes.

► Inmunohistoquímica y alteraciones genéticas:

Presentan pérdida de la expresión de E-Cadherina, que puede ser completa o parcial. También muestran alteración de la expresión de la Catenina p120, que se pierde en la membrana celular y se expresa en el citoplasma.

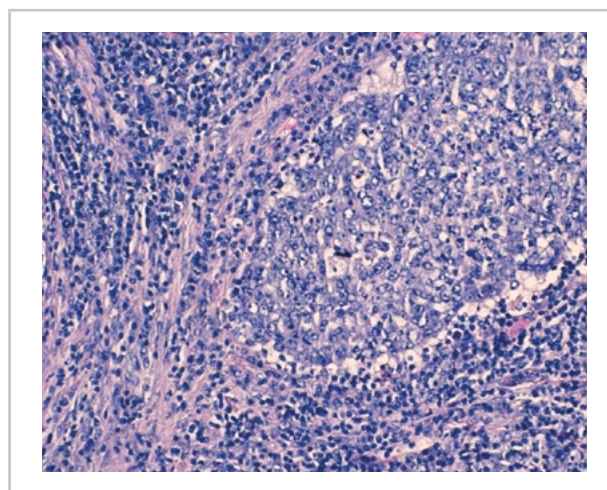
La pérdida de E-Cadherina se debe a la existencia de una mutación del gen CDH1, localizada en 16q22.1. Ello provoca una pérdida de la cohesión celular, responsable del patrón histológico en hileras y la tendencia a infiltrar de forma difusa las superficies serosas.

▼ Carcinoma con rasgos medulares.

Incluye el carcinoma invasivo de tipo no específico con rasgos medulares, el carcinoma medular puro o típico (que representa <1% de carcinomas de mama) y el carcinoma medular atípico. Afecta preferentemente a mujeres de entre 42-52 años, pero hasta el 26% son menores de 35 años.

Histológicamente se define por mostrar los siguientes criterios (si se cumplen todos cuando es un tipo medular y algunos cuando tiene rasgos medulares):

- 1/ Márgenes circunscritos o expansivos.
- 2/ Patrón de crecimiento sincitial >75%, sin diferenciación tubular.
- 3/ Alto grado nuclear (pleomórficos, vesiculares, ≥ 1 nucléolo, abundante citoplasma y abundantes mitosis atípicas).
- 4/ Prominente infiltrado inflamatorio linfocítico estromal difuso. **Fig. 7.1**



Nidos epiteliales de células marcadamente atípicas, dispuestas en un patrón sincitial, rodeados de abundante componente inflamatorio linfocítico.

Figura 7.1. Carcinoma medular.

Son tumores triple negativos, con expresión variable de CK5/6, CK14, EGFR y p53.

Los carcinomas medulares típicos tienen mejor pronóstico, posiblemente relacionado con el prominente infiltrado inflamatorio acompañante; mientras que los atípicos o con rasgos medulares son más agresivos, siendo frecuentemente triple negativos/basal-like².

A nivel genético un alto porcentaje muestran un patrón molecular basal-like, con inestabilidad genómica, frecuente mutación en línea germinal BRCA1 o alteraciones somáticas (mutación de p53) e hipermetilación del promotor del gen BRCA1.

▼ Carcinoma metaplásico.

Representa entre el 0,2-5% de cánceres (el mesenquimal el 1%), afectando a mujeres de edad similar al CDI NST receptores de estrógenos negativos. Se define por la existencia de diferenciación epitelial neoplásica en células escamosas o elementos mesenquimales, tipo fusocelulares, condroides, óseos o rabdoideos.

A nivel patológico, son tumores de márgenes circunscritos o infiltrativos, con más o menos cambio quístico y mayores de 4 cm. (1,2-10 cm.). Es importante diferenciarlo del tumor phyllodes maligno. Inmunohistoquímicamente (IHQ) más del 90% son triple negativo, con expresión de p63, CK5/6, CK14 y EGFR.

Existen diferentes subtipos según la celularidad presente, algunos acompañados de fondos con células fusiformes y linfocitos:

- Adenoescamoso de bajo grado.
- Metaplásico fibromatosis-like (fusiformes “blandas” en estroma colagenizado).
- De células escamosas (cavidades quísticas con células escamosas y escasa desmoplasia). **Fig. 7.2**
- De células fusiformes (con moderado pleomorfismo).
- Metaplásico con diferenciación mesenquimal (mesenquimal y carcinomatoso).
- Metaplásico mixto (diferentes elementos).

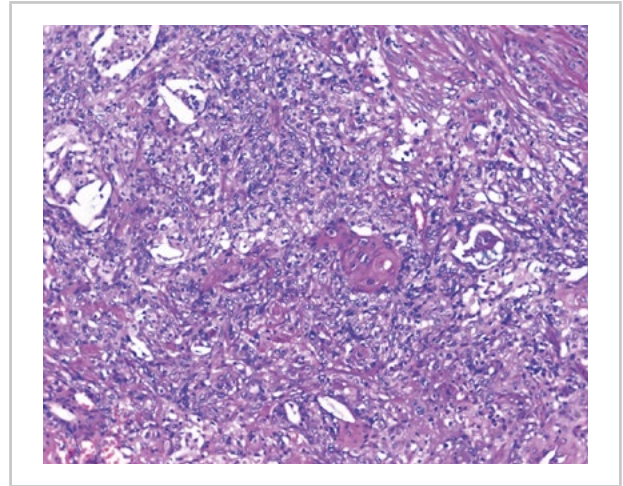


Figura 7.2. Carcinoma metaplásico con focos de diferenciación escamosa.

En general tienen mal pronóstico, por la poca respuesta a la quimioterapia y la posibilidad de metástasis a distancia (pulmón y cerebro), siendo infrecuente la afectación ganglionar. Aunque el pronóstico es mejor en los adenoescamosos y fibromatosis-like.

▼ Carcinoma con diferenciación apocrina.

La presencia de metaplasia apocrina de forma difusa representa el 4% de los carcinomas invasivos de mama. Se define por células apocrinas con núcleo grande, nucléolo evidente y abundante citoplasma granular eosinófilo, PAS diastasa resistente, (células tipo A) o citoplasma amplio vacuolado (células tipo B) o combinación de ambos. Los receptores hormonales son negativos, con expresión de receptores de andrógenos, HER2 y posible isoforma alpha 36 de receptores de estrógenos.

Su pronóstico es similar o algo mejor al CDI NST.

A nivel genético se encuentran cambios en el número de copias estudiadas por CGH (Hibridación Genómica Comparativa) y señales de diferenciación apocrina.

▼ Carcinoma mucinoso o coloide.

El tipo puro representa el 2% de cánceres y afectan preferentemente a mujeres mayores de 55 años.

Son tumores redondeados, de márgenes expansivos y consistencia elástica. Ecográficamente de aspecto hipoecoico. Pueden ser puros (> 90% de mucinoso) o mixtos. Definidos como nidos, de forma y tamaño variable, de células pequeñas y uniformes, con poca atipia citológica, flotando en lagos de mucina extracelular delimitados por finos septos fibrovasculares.

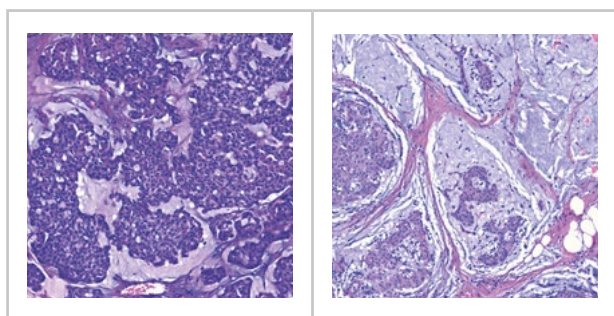
Expresan receptores hormonales, WT1 y algunos casos receptores de andrógenos, con HER2 negativo. Existen dos subtipos histológicos **Fig. 7.3**:

▶ **Tipo A o hipocelular (clásico):** Gran cantidad de moco extracelular.

▶ **Tipo B o hiper celular:** Gran cantidad de nidos celulares con diferenciación neuroendocrina (expresión de cromogranina A y sinpatofisina).

Tienen un pronóstico excelente los puros, con poca recurrencia.

A nivel genético muestran un patrón molecular luminal A, siendo rara la inestabilidad genética y amplificaciones en los puros, pudiéndose encontrar patrones de expresión de genes más próximos a los carcinomas neuroendocrinos en los tipos B que A.



A. Hiper celular: nidos de células neoplásicas con rasgos neuroendocrinos, flotando en medio de escaso material mucoide.

B. Hipocelular: nidos de células neoplásicas flotando en medio de abundante material mucoide.

Figura 7.3. Carcinoma mucinoso.

▼ Carcinoma con diferenciación de células en anillo de sello.

Son raros y se definen por la presencia de células en anillo de sello.

Histológicamente, existen dos variantes citológicas: una de tipo lobulillar con grandes vacuolas intracitoplasmáticas de material mucoide PAS/Azul-alcian positivo (frecuente en el carcinoma lobulillar clásico o pleomórfico); y otro similar al cáncer gástrico, material mucoide difuso intracitoplasmático que desplaza al núcleo. Expresan receptores hormonales.

Su pronóstico es incierto y las alteraciones genéticas son desconocidas.

▼ Carcinoma con diferenciación neuroendocrina.

Representan el 1% de los carcinomas de mama, afectando a mujeres de 60-70 años, con serología de marcadores neuroendocrinos. Muestran características morfológicas similares a los neuroendocrinos gastrointestinales y pulmonares, con diferente atipia. Histológicamente existen diferentes tipos:

▶ Tumor neuroendocrino, bien diferenciado (leve o moderada atipia).

▶ Carcinoma neuroendocrino, pobremente diferenciado o de célula pequeña (numerosas mitosis y necrosis, con émbolos tumorales intralinfáticos y carcinoma intraductal).

▶ Carcinoma invasivo con diferenciación neuroendocrina (presente en > 30% del tumor, como en mucinoso hiper celular y papilar sólido).

Expresan receptores hormonales los bien diferenciados y >50% de pobremente diferenciados, con HER2 negativo, además de expresión de marcadores neuroendocrinos. Su pronóstico depende del grado y estadio del carcinoma.

A nivel genético muestran un patrón molecular luminal A y se encuentran alteraciones similares a los carcinomas neuroendocrinos.

▼ Carcinoma papilar invasivo.

Es muy raro y no se asocia a carcinoma papilar encapsulado ni sólido. Se define un patrón arquitectural predominante papilar en > 90% de la lesión con márgenes infiltrantes. Su pronóstico depende del grado y estadio. Se desconocen sus alteraciones genéticas.

▼ Carcinoma micropapilar invasivo.

Son raros, representando 0,9-2%, pudiendo existir focos micropapilares hasta en el 7,4% de los carcinomas. Afecta a mujeres de edades similares al NST luminal y a un pequeño porcentaje de hombres.

Se define como nidos celulares pequeños con núcleos poco pleomórficos, polarizados hacia el exterior, en forma de mórula con eje fibrovascular central, rodeados por espacio estromal vacío. Con pocas o algunas mitosis y rara necrosis o infiltrado inflamatorio.

Expresan receptores hormonales y el HER2 es variable, en algunas series predomina su sobreexpresión. Su pronóstico es indeterminado, con frecuente invasión vasculolinfática y metástasis ganglionares.

A nivel genético muestran más frecuentemente un patrón molecular luminal que basal-like y se pueden encontrar alteraciones aberrantes en el número de copias de los genes o algunas amplificaciones recurrentes.

▼ Carcinoma rico en glucógeno.

Presentan en más del 90% de las células citoplasma claro que contiene glucógeno, positivo con tinción de PAS, lábil al tratamiento con diastasa. Deben diferenciarse de otros carcinomas que presentan citoplasma claro debido a artefactos del procesamiento tisular. Muestran atipia nuclear de alto grado.

La expresión de receptor de estrógenos y HER2 es variable.

Representan 1-3% de los carcinomas de la mama.

El pronóstico es similar al de los carcinomas NST.

▼ Carcinoma rico en lípidos.

Son carcinomas de alto grado que presentan lípidos en más del 90% de las células. Pueden presentar metaplasia condroide. En el componente *in situ* se pueden observar células “en tachuela”, con cambio de tipo lactacional.

Generalmente son triple negativo.

Son tumores de comportamiento agresivo, con alta frecuencia de metástasis axilares y a distancia.

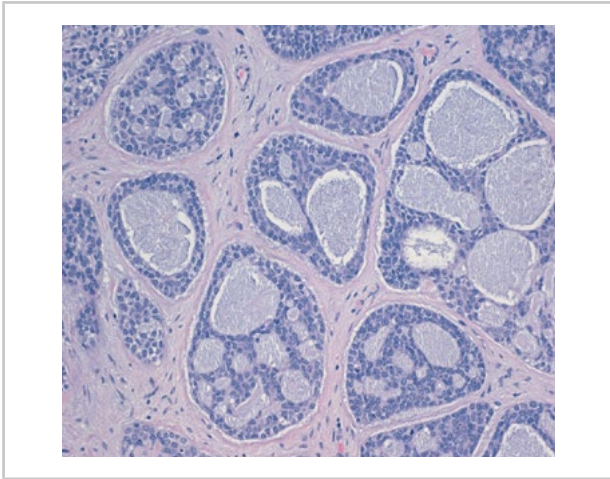
▼ Carcinoma inflamatorio.

Es raro y muy agresivo, con rápido crecimiento asociado a cambios cutáneos, sin masa y frecuente afectación ganglionar. Representa 1-10% de cánceres de mama, con mayor incidencia en mujeres afro-americanas y menor en Asia y Pacífico. Son posibles factores de riesgo el elevado índice de masa corporal y la edad joven.

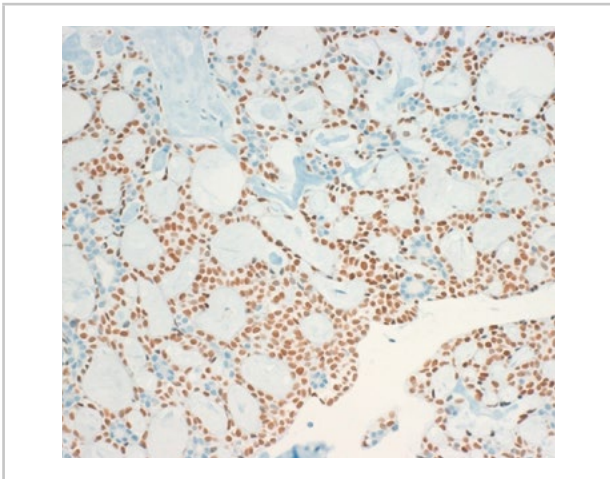
Se define por presencia de émbolos tumorales en linfáticos dérmicos superficiales, frecuentemente con CDI NST de grado histológico III y con invasión vascular angiogénicas. Tiene una estadificación propia T4d. Inmunohistoquímicamente más del 50% son receptores hormonales negativos y alrededor del 40% son HER2 positivos. También expresan algunos EGFR y la mayoría p53.

Su pronóstico es muy malo, observando solo una mejora del 25-50% de la supervivencia con el tratamiento neoadyuvante.

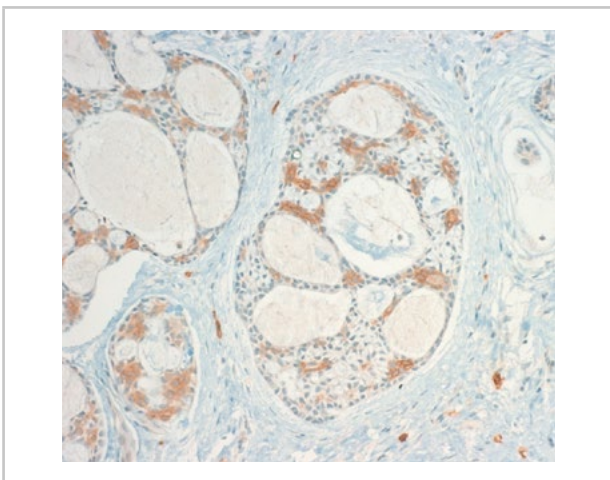
No existe una genética específica, aunque muestran un patrón molecular tipo HER2 o basal-like, siendo común las alteraciones de sobreexpresión de HER2 y mutación de p53.



A. Pseudoquistes con patrón cribiforme.



B. Tinción con Myb positiva en las células mioepiteliales.



C. C-kit es positivo en las células luminales.

Figura 7.4. Carcinoma adenoide quístico.

▼ **Carcinomas análogos a los de las glándulas salivales.**

Muestran características histológicas similares a los carcinomas de las glándulas exocrinas de anejos cutáneos y glándulas salivales^{3,4}.

► **Carcinoma adenoide quístico (CAQ):**

Tumores con doble población celular, mioepitelial y epitelial luminal⁵.

Representan menos del 0,1% de los carcinomas de la mama. Predominan en mujeres mayores (edad media de 65 años).

Las células mioepiteliales forman pseudoquistes que se agrupan formando un patrón cribiforme. Los pseudoquistes contienen colágeno degenerado con cambio mucóide. Las células luminales delimitan pequeños acinos. El estroma es denso, poco celular y de aspecto hialino. Se pueden identificar depósitos de material tipo membrana basal en algunos pseudoquistes. **Fig. 7.4**

Variantes histológicas: sólido y tubular.

• **Inmunohistoquímica y alteraciones genéticas:**

Las células mioepiteliales son positivas con p63 y citoqueratinas de célula basal en grado variable (CK 5/6, CK14). También son positivas con Myb en un alto porcentaje. Las células luminales son positivas con CD117 (c-kit). Son tumores triple negativo (RE/RP-, HER2-).

El CAQ presenta una translocación cromosómica recurrente t(6;9)(q22-23;p23-24), que es responsable de la fusión de Myb y NFIB, provocando sobreexpresión de Myb.

Son tumores de buen pronóstico en la mayoría de los casos, con escasa tendencia a la afectación de los ganglios linfáticos. La supervivencia a los 10 años es superior al 90%. Algunos casos son multifocales y recidivan, si la extirpación no ha sido completa. Ocasionalmente, presentan dediferenciación o transformación de alto grado y pueden desarrollar metástasis pulmonares.

▶ **Carcinoma mucoepidermoide:**

Tumores formados por células escamosas no queratinizantes, células de tipo intermedio y células mucosecretoras. Pueden formar estructuras quísticas. Predominan los casos con histología de bajo grado. Las células escamosas e intermedias son positivas con p63 y CK14. Las células mucosecretoras son positivas con CK7. Son tumores triple negativo.

Son muy raros, < de 0,3% de los carcinoma infiltrantes.

El pronóstico es excelente en los casos de bajo grado, pero los casos de alto grado pueden presentar metástasis ganglionares y a distancia.

▶ **Carcinoma polimorfo:**

Presentan nódulos celulares sólidos en la zona central y en la periferia patrón alveolar, cribiforme y trabecular. Pueden formar hileras, que simulan al carcinoma lobulillar. La IHQ muestra BCL2 positivo, CK7 y E-Cadherina con positividad débil. Son tumores triple negativo.

Los escasos casos descritos en la mama han tenido comportamiento agresivo.

▶ **Carcinoma de células acinares:**

Son carcinomas formados por acinos ricos en gránulos de zimógeno, similares a los descritos en la glándula parótida.

Tumores muy infrecuentes que se presentan en pacientes con una edad media de 56 años.

El patrón histológico es variable con microacinos, focos de comedonecrosis y dediferenciación con patrón sólido. Es característica la presencia de células de citoplasma granular eosinófilo. Algunos casos muestran células de citoplasma claro y aspecto hipernefroide. Pueden asociarse a adenosis microglandular⁶.

La IHQ muestra positividad para alpha-1-antiquimotripsina, lisozima y S100. Son tumores triple negativo.

Pueden presentar metástasis ganglionares. La escasa experiencia muestra comportamiento de bajo grado.

▶ **Carcinoma en adenomioepitelioma (AME):**

Los AME son tumores formados por estructuras tubulares tapizadas por células epiteliales de tipo luminal y rodeadas por una proliferación de células mioepiteliales. Pueden asociarse a carcinomas infiltrantes de tipo no especial, carcinomas indiferenciados y carcinomas metaplásicos. Algunos tumores son similares a los carcinomas epiteliales-mioepiteliales de las glándulas salivales.

La IHQ es positiva para marcadores de célula mioepitelial y CK de bajo peso en el componente luminal.

Los AME con carcinoma raramente metastatizan en ganglios axilares, pero pueden presentar metástasis viscerales.

▶ **Carcinoma mioepitelial:**

Tumor formado predominantemente por células fusiformes de citoplasma eosinófilo, con actividad mitótica. Las células tumorales se relacionan con la capa mioepitelial de ductos atrapados en la periferia del tumor. Se han descrito casos con células epiteloides, células claras y plasmocitoides, también diferenciación escamosa focal.

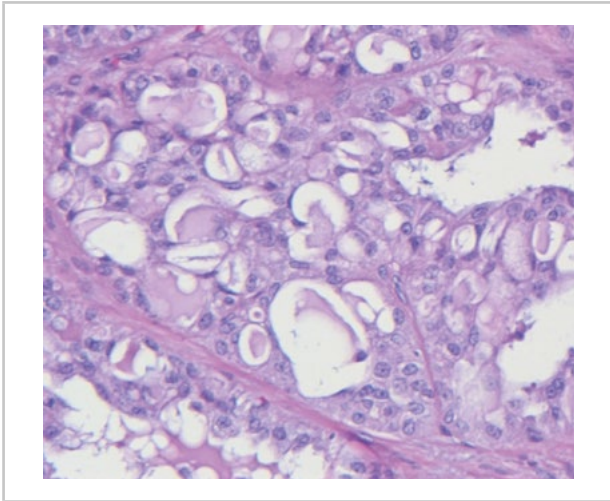
Son tumores de mal pronóstico que recidivan y metastatizan.

▶ **Carcinoma oncocítico:**

Tumores con células de citoplasma granular, eosinófilo, que contienen numerosas mitocondrias, en más del 70% de las células. Muestran patrón sólido y papilar, están bien circunscritos. La IHQ muestra positividad para mitocondrias, EMA, receptores hormonales y HER2 (25%).

Predominan en mujeres mayores de 60 años.

El pronóstico es similar al de los carcinomas de tipo NST.



Estructuras tubulares adosadas entre si, que contienen secreción eosinófila.

Figura 7.5. Carcinoma secretor.

► Carcinoma secretor:

Carcinoma infiltrante de bajo grado que presenta patrón microquístico, sólido y tubular, en diferentes combinaciones. Las células tumorales muestran citoplasma eosinófilo. Se observa abundante material de secreción intacelular y extracelular. Presenta estroma escleroso en el centro. **Fig. 7.5**

La IHQ muestra patrón triple negativo.

Representan < 0,15% de los carcinomas de la mama. Predominan en pacientes jóvenes, edad media de 25 años, con un rango muy amplio.

Presentan una alteración genética característica, con translocación t(12;15) que crea el gen de fusión ETV6-NTRK3.

El pronóstico es favorable especialmente en jóvenes menores de 20 años. Las metástasis ganglionares suelen afectar menos de tres ganglios y las metástasis a distancia son excepcionales.

► Carcinoma con diferenciación sebácea:

Son similares a los tumores de glándulas sebáceas que predominan en los anejos oculares.

Presentan nidos de células con citoplasma microvacuolado, positivas con la tinción Oil Red O. Éstas se acompañan de células más pequeñas de núcleo ovoide o fusiforme, con citoplasma eosinófilo. Pueden presentar mórulas escamosas.

Los receptores hormonales y HER2 pueden ser positivos.

Son tumores muy raros. Se han descrito casos con metástasis ganglionares y a distancia.

▼ Carcinoma microinfiltrante.

Es una situación infrecuente y normalmente se encuentra en el contexto de un carcinoma intraductal extenso de alto grado. Se define como uno o más focos microscópicos separados de células infiltrantes de tamaño igual o inferior a 1 mm cada uno, caracterizado por células en acúmulos angulados o aisladas, de CDI NST, en estroma edematoso, desmoplásico y con inflamación crónica. Tiene una estadificación propia pT1mi. Aunque es importante su perfil IHQ, normalmente se desconoce por la pérdida del foco en las secciones consecutivas.

Tienen un pronóstico excelente, influenciado por el tamaño y el grado del CDIS adyacente. Aunque la afectación ganglionar axilar es rara, se encuentra entre el 0-20% de los casos. Su genética no ha sido estudiada.

▼ Carcinoma *in situ* (CDIS).

▸ Carcinoma ductal *in situ* (CDIS):

El CDIS se caracteriza por la proliferación de células neoplásicas confinadas a la unidad ducto-lobulillar, con preservación de la capa mioepitelial. Presenta distintos patrones histológicos, que con frecuencia coexisten en el mismo tumor (cribiforme, micropapilar, sólido, comedonecrosis). Se subdividen según el grado nuclear (bajo, intermedio y alto).

La incidencia del CDIS ha aumentado significativamente, representa en la actualidad el 20-25% de los cánceres de mama. Un alto porcentaje se detecta en las biopsias de mujeres asintomáticas con microcalcificaciones.

- Histología:
 - *Los CDIS de bajo grado* muestran discreto aumento del tamaño nuclear y nucléolo poco prominente. Las células forman puentes, micropapilas y estructuras cribiformes con numerosas luces. Las células no se solapan, a diferencia de las hiperplasias. No presentan necrosis o ésta es escasa y puntiforme. Las calcificaciones son escasas y pequeñas, generalmente redondeadas, de tipo psamoma.
 - *Los CDIS de alto grado* muestran núcleos grandes y pleomórficos, con cromatina densa y nucléolo aparente. Predomina el patrón sólido. Muestran comedonecrosis y calcificaciones extensas.
 - *Los CDIS de grado intermedio* muestran características entre los dos tipos descritos.
 - Los CDIS con *patrón micropapilar* suelen ser extensos y multifocales.
 - Algunos CDIS muestran características celulares especiales (apocrinos, mucinosos, neuroendocrinos).
 - *La enfermedad de Paget del pezón* constituye un tipo especial de CDIS, con afectación de la epidermis a nivel del pezón y de la areola. Muestra alto grado histológico. Con frecuencia se detecta CDIS en los conductos galactóforos retroareolares.

Los CDIS presentan positividad para receptores de estrógenos y progesterona, y sobreexpresión de HER2, en una proporción similar a los carcinomas infiltrantes, 75% y 15-20%, respectivamente.

Las tinciones del mioepitelio (p63, miosina y otras) muestran que dicha capa está preservada. Ello es importante en el diagnóstico diferencial con el carcinoma infiltrante, especialmente en casos de CDIS asociados a lesiones esclerosantes, que simulan infiltración.

En el diagnóstico diferencial con la hiperplasia ductal (HD) florida, no atípica, son de utilidad las tinciones con citoqueratinas de célula basal (CK14 y CK 5-6), que son positivas en la HD y negativas en el CDIS.

No existen marcadores IHQ para diferenciar CDIS de bajo grado e hiperplasia ductal atípica (HDA). La diferenciación es cuantitativa, se consideran HDA las lesiones de bajo grado ≤ 2 mm y/o que no afectan de forma uniforme más de 2 espacios ducto-lobulillares.

En el diagnóstico diferencial del CDIS con el carcinoma lobulillar *in situ* es útil la tinción de E-Cadherina, que está preservada en el CDIS.

La mortalidad por CDIS es muy baja, inferior a 3% a 10 años. Las recidivas locales pueden presentar CDIS o carcinoma infiltrante.

La resección completa con márgenes libres (2 mm) es, con cierta frecuencia, más compleja que en el carcinoma infiltrante, siendo necesarias reintervenciones y mastectomía en algunos casos.

► **Carcinoma papilar *in situ* (CPIS):**

El CPIS presenta finos ejes fibrovasculares tapizados por una población celular uniforme de células cilíndricas con atipia de bajo grado. Las células epiteliales pueden formar una monocapa o solaparse. También pueden formar puentes rígidos y patrón cribiforme (Fig. 7.6). Las tinciones de IHQ muestran ausencia de la capa mioepitelial tapizando los ejes vasculares. El CPIS está confinado en espacios ductales distendidos, que preservan la capa mioepitelial.

Los CPIS pueden asociarse a papilomas benignos y deben diferenciarse de los papilomas con HDA, siguiendo criterios cuantitativos y de los papilomas con hiperplasia ductal florida.

► **Carcinoma papilar encapsulado:**

A diferencia de los CPIS descritos anteriormente, están rodeados por tejido fibroso y desprovistos de capa mioepitelial en la periferia. El manejo de estas lesiones debe ser como otros carcinomas *in situ*.

► **Carcinoma papilar sólido (CPS):**

Muestra nidos celulares sólidos y bien circunscritos, con ejes vasculares muy finos y poco aparentes. Las células con frecuencia son fusiformes y expresan marcadores neuroendocrinos. Pueden presentar moco extracelular. La capa mioepitelial en el periferia puede ser discontinua o estar ausente. Sin embargo se manejan como el carcinoma *in situ*.

► **Carcinoma lobulillar *in situ* (CLIS):**

El CLIS muestra una población uniforme de células pequeñas, redondeadas y poco cohesivas, que rellenan y distienden los acinos lobulillares, pueden afectar los conductos terminales con patrón pagetoide. Algunos casos muestran necrosis y microcalcificaciones.

El núcleo en el CLIS es excéntrico, puede mostrar vacuolas o microluces citoplásmicas con secreción puntiforme. El citoplasma puede ser apocrino.

El CLIS pleomórfico muestra atipia nuclear de alto grado y con frecuencia focos de necrosis. Debe diferenciarse del CDIS, siendo útil la tinción de E-Cadherina.

La hiperplasia lobulillar atípica (HLA) se diferencia del CLIS por criterios cuantitativos. La HLA afecta el lobulillo de forma parcial (menos del 50% de los acinos) y causa menor distensión.

El CLIS y sus variantes muestran ausencia total o marcada disminución de E-Cadherina. La p120 muestra expresión aberrante en el citoplasma y ocasionalmente en el núcleo.

Los CLIS de tipo clásico evidencian receptores de estrógenos y progesterona positivos. El HER2 es negativo. Los CLIS pleomórficos y apocrinos pueden ser receptores negativos y HER2 positivos.

El CLIS y en menor medida la HLA son marcadores de riesgo de cáncer infiltrante de mama, el riesgo afecta por igual a ambas mamas. El riesgo relativo varía entre 4 y 12 veces el esperado en mujeres de edad similar. El riesgo absoluto de carcinoma infiltrante es aproximadamente de 25%.

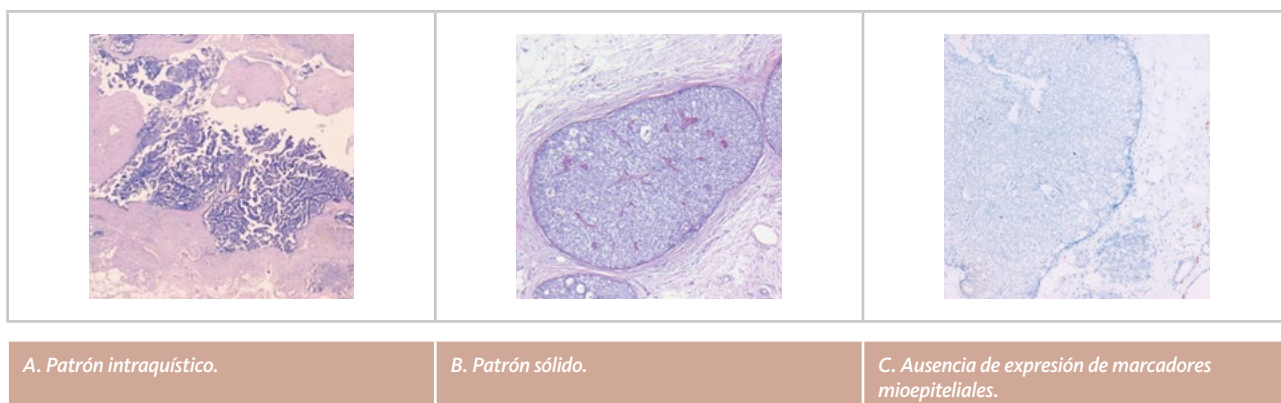
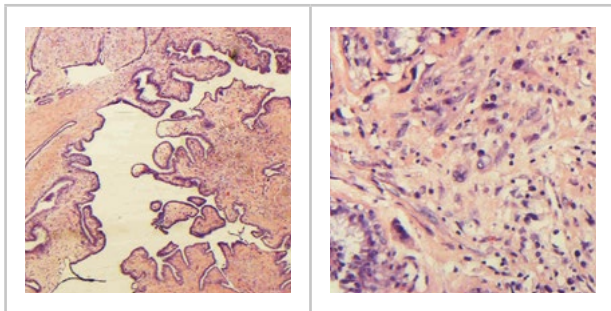


Figura 7.6. Carcinoma papilar *in situ*.

En algunos casos se comportan como precursores no obligatorios de carcinoma infiltrante, apareciendo el carcinoma infiltrante en una zona previamente diagnosticada de CLI/HLA. Su presencia en los márgenes de una tumorectomía no es una indicación absoluta de ampliación.



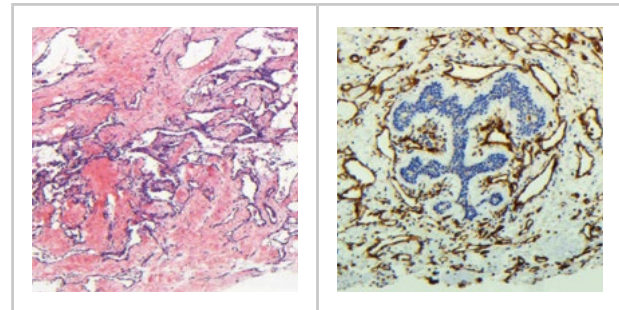
A. Muestra lesión fibroepitelial con patrón foliáceo y estroma celular.

B. Presencia de células pleomórficas en el estroma.

Figura 7.7. Tumor phyllodes de malignidad intermedia (Borderline).

▼ Tumor phyllodes (TP).

El tumor phyllodes es una lesión fibroepitelial que muestra patrón intracanalicular, similar al del fibroadenoma, con estroma más celular y patrón foliáceo. El estroma en la periferia puede mostrar patrón infiltrativo⁷. Los criterios histológicos clasifican los TP en benignos, borderline y malignos. Los TP benignos presentan 4 o menos mitosis/10 campos de gran aumento (CGA), bordes circunscritos y escasa atipia citológica. Los TP malignos muestran 10 o más mitosis/ 10 CGA, marcada hiper celularidad estromal y atipia citológica. Pueden mostrar proliferación estromal que desplaza al componente epitelial (stromal overgrowth). Los TP borderline muestran características intermedias. En algunos TP se observan elementos heterólogos benignos o malignos. La tasa de recidiva reportada es de 10-17%, 14-25% y 23-30%, para TP benignos, borderline y malignos, respectivamente (Fig. 7.7). Los TP malignos pueden metastatizar en aproximadamente 9% de los casos. El componente metastásico suele ser mesenquimal. Se diseminan por vía hematogena, siendo las metástasis ganglionares raras. La supervivencia media es inferior a 6 años y el tiempo medio libre de enfermedad es inferior a 3 años.



A. Espacios vasculares tortuosos, que infiltran el estroma, atipia citológica de bajo grado.

B. La tinción con CD31 es positiva en las células endoteliales del tumor.

Figura 7.8. Angiosarcoma.

▼ Sarcomas de la mama.

En la mama se describen sarcomas de distintos tipos, angiosarcoma, liposarcoma, rhabdomyosarcoma, osteosarcoma, leiomyosarcoma y tumores de células granulares malignos.

Los *angiosarcomas* (AS) son los tumores mesenquimales malignos más frecuentes en la mama.

Los AS pueden ser primarios o secundarios después de la cirugía o irradiación para el tratamiento del cáncer de mama. Los AS secundarios pueden afectar la piel, la pared torácica o el parénquima mamario.

Los AS primarios representan el 0,05% de los tumores malignos de la mama.

Los AS pueden ser de bajo grado, grado intermedio o alto grado.

Los AS de bajo grado muestran proliferación estructuras vasculares complejas, con endotelio prominente, que disecan el estroma lobulillar e infiltran el tejido adiposo. (Fig. 7.8)

Los AS de alto grado muestran zonas con patrón de crecimiento sólido, marcada atipia, frecuentes mitosis y focos de necrosis.

La IHQ muestra positividad para los marcadores endoteliales (CD31, CD34, ERG, FLI-1) y ocasionalmente para podoplanina (D2-40).

El grado histológico en los AS tiene escaso valor pronóstico⁸. AS de cualquier grado pueden metastatizar por vía hematogena, siendo raras las metástasis axilares.

▼ Linfomas de la mama.

Se consideran linfomas primarios de la mama los que se presentan como una tumoración dominante, sin historia previa de linfoma nodal.

Pueden presentar distintos tipos histológicos: Linfoma difuso de célula grade B; linfoma de tipo marginal; linfoma folicular; linfoma de Burkitt; linfomas de células T.

Se han descrito linfomas anaplásicos de célula grande (LACG) ALK negativos asociados a implantes mamarios. Se asocian a seroma periprotésico (Fig. 7.9). Estos tumores son CD30+ y muestran marcadores de linfocitos T (CD3). Generalmente están limitados a la cápsula fibrosa periprotésica y pueden detectarse en el examen citológico del líquido del seroma. El pronóstico en la mayoría de los casos ha sido favorable, después de la resección local del tumor, sin tratamiento con quimioterapia⁹.

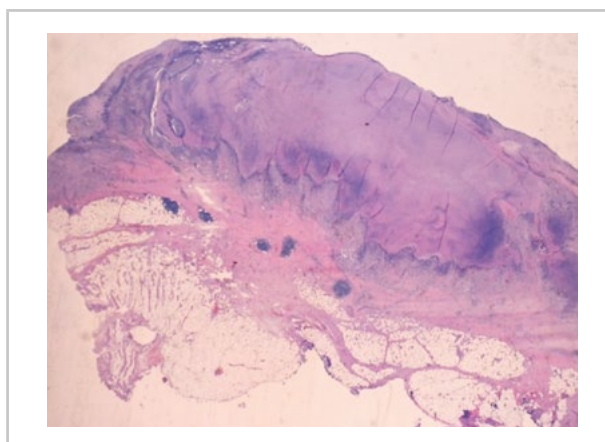
▼ Carcinoma metastásico en la mama.

Los tumores extramamarios más comunes que metastatizan en la mama son hematológicos, melanoma, carcinomas de pulmón, ovario, próstata, riñón, estómago y tumores carcinoides. En niños son el rhabdomyosarcoma y los linfomas. Representa entre 0,2-1,3% de tumores de mama. En el 30% de los casos el primer síntoma es la metástasis mamaria, que cuando existe historia previa de neoplasia maligna esta puede aparecer entre el primer mes y los 15 años después del diagnóstico.

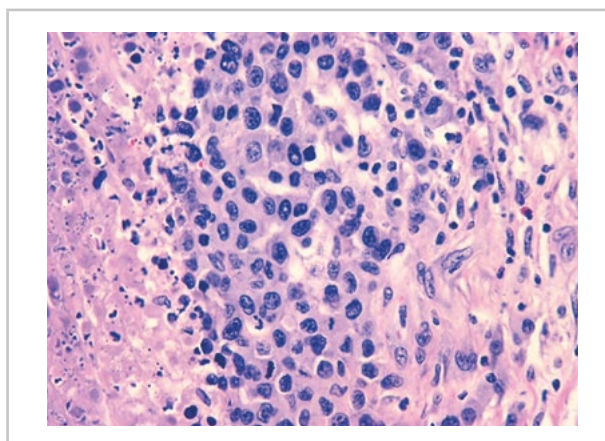
Se manifiestan como masas redondas y bien delimitadas, más que espiculadas, múltiples o como microcalcificaciones. Su diagnóstico es por biopsia o posible citológica, con confirmación inmunohistoquímica.

Su pronóstico es muy pobre, requiriendo tratamiento sistémico o paliativo, al tratarse de enfermedad diseminada con frecuente muerte en menos de 1 año.

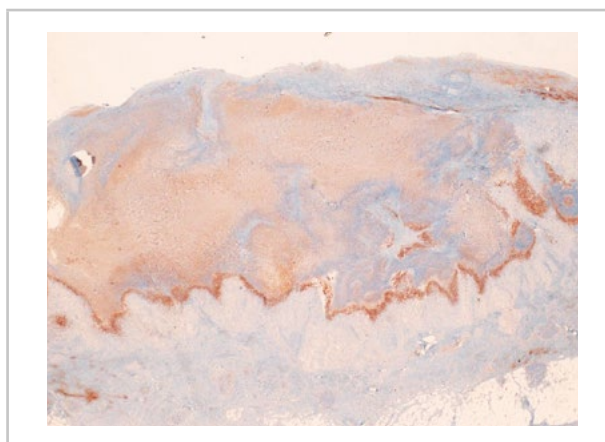
El tipo histológico constituye un factor pronóstico morfológico importante, existiendo patrones que confieren un mejor comportamiento a la lesión (carcinoma tubular, carcinoma cribiforme, carcinoma mucinoso...) y otros peor evolución (carcinoma micropapilar infiltrante, carcinoma inflamatorio, carcinoma metaplásico...). Los criterios morfológicos para establecer el tipo histológico han de aplicarse de forma estricta de manera que el patrón sea mayoritario para etiquetarlo como una forma pura del tipo histológico.



A. La cápsula periprotésica muestra una amplia zona de necrosis y en la periferia se observa proliferación celular.



B. La proliferación linfoide muestra células grades de núcleos pleomórficos.

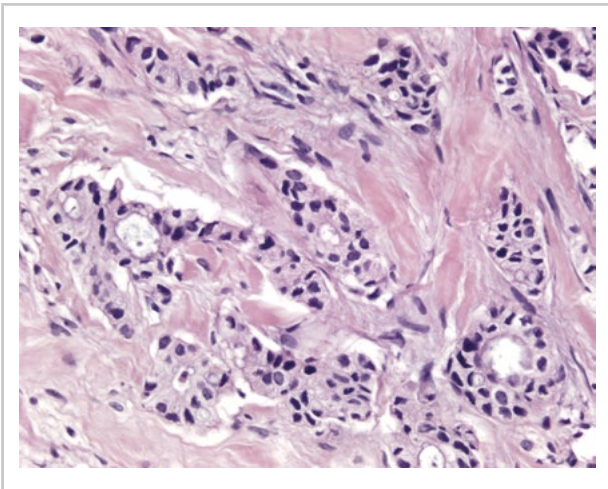


C. CD30 es positivo en la proliferación linfoide.

Figura 7.9. Linfoma anaplásico de células grandes asociado a implante mamario.

☞ Take-Home messages: Ideas a retener.

- El tipo histológico constituye un factor pronóstico morfológico importante, existiendo patrones que confieren un mejor comportamiento a la lesión (carcinoma tubular, carcinoma cribiforme, carcinoma mucinoso...) y otros peor evolución (carcinoma micropapilar infiltrante, carcinoma inflamatorio, carcinoma metaplásico...).
- Los criterios morfológicos para establecer el tipo histológico han de aplicarse de forma estricta de manera que el patrón sea mayoritario para etiquetarlo como una forma pura del tipo histológico.



HE: Tinción por Hematoxilina-Eosina.

☒ Bibliografía:

General:

- Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, Tan PH, van de Vijver MJ (Eds.): WHO Classification of tumours of the breast. IARC: Lyon 2012. ISBN 978-92-832-2433-4.
- Hoda SA, Brogi E, Koerner FC, Rosen PP. Rosen's Breast Pathology. Cuarta edición. Wolters Kluwer, Philadelphia, 2014. ISBN 978-14-511-7653-7.
- Hicks DG, Lester SC. Diagnostic Pathology Breast. Amirsys, Canada, 2012

Específica:

1. Rakha EA, Ellis IO. Lobular breast carcinoma and its variants. *Semin Diagn Pathol* 2010;27(1):49-61.
2. Thike AA, Cheok PY, Jara-Lazaro AR, et al. Triple-negative breast cancer: clinicopathological characteristics and relationship with basal-like breast cancer. *Mod Pathol* 2010;23(1):123-33.
3. Foschini MP, Krausz T. Salivary gland-type tumors of the breast: a spectrum of benign and malignant tumors including "triple negative carcinomas" of low malignant potential. *Semin Diagn Pathol* 2010;27(1):77-90.
4. Foschini MP, Morandi L, Asioli S, et al. The morphological spectrum of salivary gland type tumors of the breast. *Pathology* 2017;49(2):215-27.
5. Marchiò C, Weigelt B, Rei-Filho JS. Adenoid cystic carcinomas of the breast and salivary glands (or "The strange case of Dr Jekyll and Mr Hyde" of exocrine gland carcinomas). *J Clin Pathol* 2010;63(3):220-8.
6. Geyer FG, Berman SH, Marchiò C, et al. Genetic analysis of microglandular adenosis and acinic cell carcinoma of the breast provides evidence for the existence of a low-grade triple-negative breast neoplasia family. *Mod Pathol* 2017;30(1):69-84.
7. Tan BY, Acs G, Apple SK, et al. Phyllodes tumours of the breast: a consensus review. *Histopathology* 2016;68(1):5-21.
8. Nascimento AP, Raut CP, Fletcher CD. Primary angiosarcoma of the breast: clinicopathologic analysis of 49 cases, suggesting that grade is not prognostic. *Am J Surg Pathol* 2008;32(12):1896-904.
9. Clemens MW, Medeiros IJ, Butler CE, et al. Complete surgical excision is essential for the management of patients with breast implant-associated anaplastic large-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2015;34(2):160-8.

► Capítulo 8

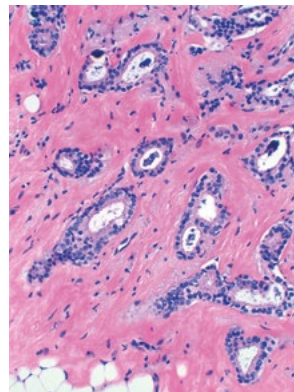
Grado histológico.

M^a Teresa Soler Monsó, M^a Ángeles Martínez Lanao, Francesc Tresserra Casas.

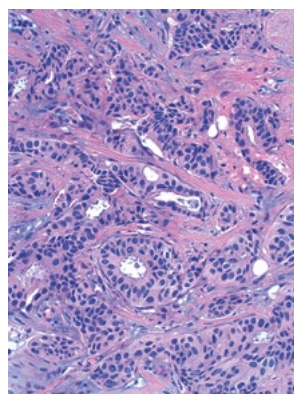
El grado histológico (GH) de un tumor es un método de clasificación basado en el grado de diferenciación del tejido tumoral que se puede aplicar en todos los tumores. En el cáncer de mama, se refiere a una evaluación semicuantitativa de las características morfológicas, mediante un método relativamente simple y barato que sólo requiere un tejido correctamente fijado y una tinción de Hematoxilina-Eosina de buena calidad, con secciones evaluadas por un patólogo experto en patología mamaria que utiliza rigurosamente un protocolo estándar.

▼ Evaluación.

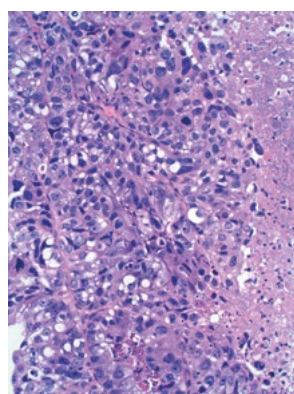
El método de gradación de Nottingham¹ es el sistema de gradación, recomendado por varias instituciones (OMS, AJCC, EU, UK RECPATH y UICC)². Se basa en la evaluación de parámetros morfológicos y valora tres variables: grado de pleomorfismo nuclear, porcentaje de formación de túbulos e índice mitótico, en una gradación independiente de 1 a 3. El grado final deriva de la suma de estos parámetros: 3-5: Bajo grado o 1, 6-7: Grado intermedio o 2 y 8-9: Alto grado o 3 (Fig. 8.1). La formación de estructuras tubulares se evalúa a pequeño aumento estimando el porcentaje de túbulos o glándulas. Se establece 1 cuando el tumor muestra más de un 75% de diferenciación, 2 cuando existe entre un 10 y un 75% de glándulas y 3 cuando es inferior a un 10%. El pleomorfismo nuclear se valora según tamaño nuclear, características de la cromatina y nucleolo. Es el componente más subjetivo. Se adjudica 1 a los tumores con núcleos pequeños, regulares con cromatina dispersa y nucleolo indistinto, con tamaño similar o discretamente superior al de las células epiteliales de tejido mamario normal. Los tumores con moderada variación de tamaño nuclear (1.5-2 veces el tamaño normal) con núcleos vesiculosos y nucleolo visible se valoran como 2, y cuando existe marcada variación de tamaño nuclear y nucleolo muy prominente se clasifica como 3.



A. Un tumor bien diferenciado (grado 1) que muestra leve pleomorfismo nuclear, > 75% de estructuras glandulares y bajo índice mitótico.



B. Un tumor moderadamente diferenciado grado 2.



C. Tumor poco diferenciado (grado 3) con marcado pleomorfismo, sin formación de túbulos (<10%) y numerosas mitosis.

Figura 8.1. Grado histológico del cáncer de mama evaluado por el sistema de clasificación de Nottingham.

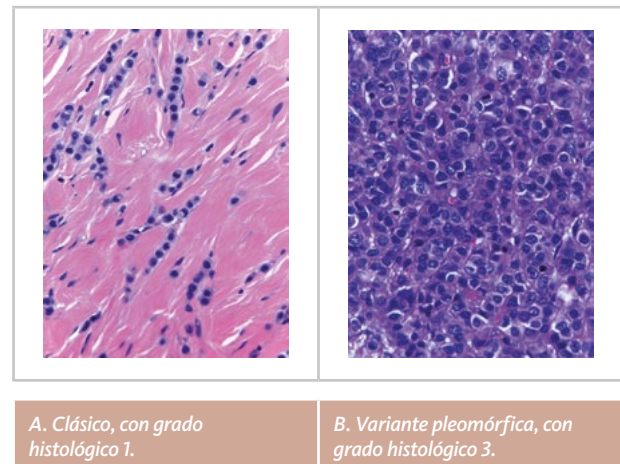
El conteo mitótico ha de ser estricto ya que refleja el índice proliferativo tumoral. Sólo hay que contar las figuras mitóticas claras y obviar imágenes dudosas con núcleos picnóticos que pueden corresponder a células apoptóticas o linfocitos intratumorales. El conteo se tiene que realizar en 10 campos consecutivos de 400 aumentos en el área con más índice proliferativo, que en las piezas quirúrgicas suele corresponderse con la periferia del tumor. La medida (diámetro) del campo de gran aumento varía según el tipo de microscopio de manera que se ha establecido una tabla (escala de Vernier) que define el número de mitosis necesario para gradar el índice mitótico según el diámetro del campo microscópico.

El tipo de fijador utilizado y el tiempo de fijación son cruciales ya que pueden influir en el índice mitótico y en el grado total. Se ha observado que un retraso en el tiempo de fijación superior a 6 horas reduce el número visible de mitosis³, lo cual implica una reducción en la proporción de casos clasificados como GH3. Actualmente, el fijador recomendado es el formol tamponado al 10% con una relación formol/volumen tisular de 10:1. El tejido ha de ser fijado lo más rápidamente posible por lo que se recomienda que el tiempo de isquemia fría entre la exéresis de tejido y la fijación sea inferior a 1 hora^{4,5}.

En la evaluación del GH, aproximadamente la mitad de los casos son asignados como GH1 o 3, mientras que los tumores restantes son clasificados como GH2. Según diferentes estudios, la proporción de casos GH2 no tendría que superar el 50% del total de lesiones malignas de la mama⁴.

Una de las características comunes en el carcinoma de mama es el incremento del índice proliferativo respecto al epitelio mamario normal. En la práctica, el número de figuras mitóticas no siempre se relaciona con la proliferación, especialmente en tumores aneuploides debido a la amplia variación de la duración del ciclo celular y particularmente en la fase mitótica del ciclo. Es por ello que se han estudiado otros medios de determinación de la actividad proliferativa. El estudio inmunohistoquímico con Ki67 es útil especialmente para determinar el estado de proliferación en muestras mal fijadas o para estratificar los GH2⁶. Algunos autores han mostrado que el Ki67 puede tener un papel importante para subdividir el grado intermedio o 2⁷ pero la validación

analítica de este marcador sigue siendo actualmente motivo de debate por la falta de estandarización inter e intralaboratorio en el trabajo de rutina.



A. Clásico, con grado histológico 1.

B. Variante pleomórfica, con grado histológico 3.

Figura 8.2. Carcinoma lobulillar infiltrante (CLI).

▼ Aplicación.

El GH es aplicable no tan solo en los carcinomas de tipo no especial (ductales) sino también en los carcinomas lobulillares (Fig. 8.2) en los que se ha observado que también tiene correlación pronóstica^{8,9}. Existen situaciones en las cuales el grado no es evaluable; así, en la punción aspiración con aguja fina (PAAF) y en el carcinoma microinfiltrante se recomienda evaluar sólo el grado nuclear. En biopsias con aguja gruesa (BAG) con escasa representación tumoral o con cambios artefactuales por estiramiento, también se recomienda no evaluar el grado o informar que el grado es provisional y pendiente de reevaluación en la pieza quirúrgica. En resecciones post-neoadyuvancia, las células tumorales pueden parecer grandes y más pleomórficas, mientras que las mitosis suelen reducirse. Como resultado, muchos tumores (aproximadamente 70%) tienen un GH similar al de la BAG pretratamiento, y ello debe ser considerado ya que es un factor pronóstico post-neoadyuvancia aunque en asociación con el grado de pretratamiento¹⁰. La reducción de figuras mitóticas tiene valor pronóstico y supone un menor riesgo de recurrencia¹¹.

El GH tiene un valor limitado en enfermedad avanzada o en cáncer de mama metastásico (estadios III/IV) y su valor no tiene implicación terapéutica en estas situaciones por lo cual no es necesario considerarlo en estos casos.

▼ Valor pronóstico:

El GH en cáncer de mama, aunque sea un parámetro sencillo de evaluar y de poco coste, sigue siendo vigente. Es un factor pronóstico y predictivo independiente (Fig. 8.3) que ha sido validado en diferentes estudios y ha sido incorporado en algoritmos de estratificación de riesgo como el Índice Pronóstico de Nottingham y el Adjuvant! on Line^{4,12}. Se ha demostrado que el valor pronóstico del GH de Nottingham es equivalente al estadio ganglionar y superior al del tamaño del tumor. En tumores receptores hormonales (RH) positivos tiene un valor pronóstico y predictivo independiente, tanto en pacientes que no han recibido tratamiento como en las que han recibido hormonoterapia neoadyuvante. También es un factor pronóstico independiente en pacientes con ganglios positivos o negativos independientemente del estado de los RH⁴.

El GH, junto con los RH y HER2 son necesarios que se determinen en la BAG de mama debido al incremento de indicación de tratamiento neoadyuvante. Es uno de los principales determinantes en la decisión de instaurar terapia adyuvante después de la cirugía. Sin el uso de GH, al determinar la indicación de terapia sistémica adyuvante, la mayoría de tumores se identificarían como de alto riesgo, por lo que su omisión podría resultar en sobretratamiento en algunas pacientes.

▼ Concordancia del GH entre la BAG y pieza quirúrgica.

La concordancia del GH entre la BAG y la resección quirúrgica es variable según diferentes estudios, oscilando entre un 59-91%. Un metaanálisis demostró una infragradaación en el 19% de pacientes mientras que hubo sobregadaación en la BAG de un 9.3%¹³. En la valoración individual de los tres parámetros, el grado de discordancia fue mayor entre el índice mitótico (60%). Ello es atribuible al método de valoración el cual requiere un mínimo de 2 mm² de tumor que es lo que corresponde a 10 campos de gran aumento. Se ha observado que un 6% de muestras tumorales obtenidas por BAG tienen menos de 10 campos. Por otro lado el tejido puede no estar óptimamente fijado y existe la posibilidad de que no incluya el margen periférico del tumor, lo que puede suponer una valoración inadecuada del índice mitótico². Existe una mayor correlación cuando la longitud total de los cilindros con tumor en la BAG supera 50 mm (83%) mientras que cuando es inferior a 50 mm sólo existe una concordancia del 68%¹⁴. También se ha objetivado que cuando la longitud del tejido tumoral es de 15 mm y se extraen 3 o más cilindros, las tasas de concordancia se mantienen estables en un 75%, lo cual indica que probablemente éste es el mínimo de tejido necesario para poder establecer el GH de manera fidedigna. Otra causa de discordancia entre la biopsia y la pieza quirúrgica es la heterogeneidad intratumoral.

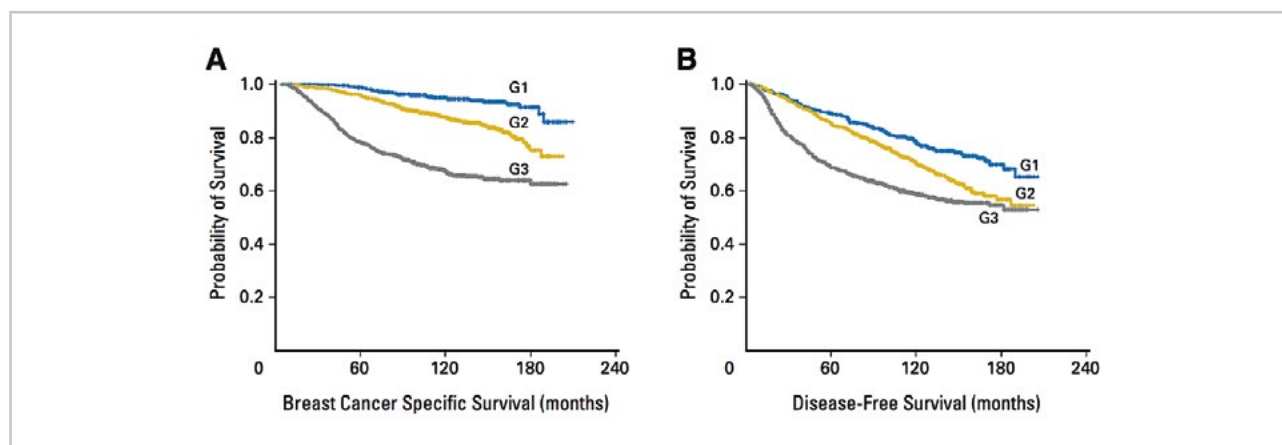


Figura 8.3. Relación entre grado histológico y la supervivencia global en pacientes con carcinoma de la mama. $p < 0.0001$. Relación entre grado histológico y recurrencia $p < 0.0001^2$.

Existe heterogeneidad histológica entre la periferia y el centro del tumor en un 29% de los tumores grandes, por lo cual el muestreo amplio en estos tumores es recomendable para obtener una correcta evaluación del GH¹⁵. Otros estudios han constatado que la concordancia BAG/pieza de resección es superior en tumores pequeños¹⁶. El estado premenopáusico y el método de obtención de biopsia guiada mediante ecografía se han demostrado como factores independientes de concordancia¹⁶.

La pieza de exéresis quirúrgica se considera el método estándar para la valoración del GH. Algunos estudios han observado una baja reproducibilidad entre los patólogos respecto a la clasificación del GH en la pieza. Sin embargo, potencialmente la clasificación del GH en la BAG no es inferior a la realizada en la pieza de exéresis. La gradación incorrecta en la BAG puede implicar una variación en el tratamiento del cáncer de mama pero las decisiones terapéuticas no se basan exclusivamente en el GH sino que incluyen otros parámetros como el estadio tumoral, receptores hormonales y HER2 por lo cual se ha observado que la gradación incorrecta sólo supone un infratratamiento en un 1.5% de pacientes y un sobretatamiento en un 3.5%¹⁷.

▼ Grado histológico y clasificación molecular.

El cáncer de mama incluye un grupo heterogéneo de tumores con diverso comportamiento y respuesta variable a terapia aún teniendo características patológicas y clínicas similares. Entre un 30-60% de tumores son clasificados como GH2 con un riesgo intermedio de recurrencia y son menos informativos de cara a una decisión clínica respecto a los GH1 o 3¹⁸, por lo cual la subclasificación de GH2 en tumores de bajo y alto riesgo podría ser beneficiosa de cara a una mejora en la estratificación de estas pacientes y personalización del tratamiento. Ello ha comportado la necesidad de establecer factores adicionales para seleccionar a las pacientes con beneficio real a la terapia, evitando así morbilidad y atrogénica en las pacientes no beneficiarias. Para reducir el riesgo de infra o sobretatamiento se han desarrollado estudios moleculares y plataformas génicas que pueden analizar miles de genes en un solo análisis y han identificado subgrupos moleculares con relevancia clínica directa¹⁹.

Existe evidencia de que los factores clínico-patológicos individuales se comportan de forma distinta según el subtipo molecular. Los perfiles de expresión génica son difíciles de integrar en la práctica diaria por el coste económico que suponen. Es por ello, que se ha realizado una clasificación molecular subrogada en base a los estudios inmunohistoquímicos que se aplica de forma rutinaria en muestras tumorales fijadas en formol e incluidas en parafina². Se ha observado correlación entre el GH y el subtipo molecular subrogado. La mayoría de tumores GH1 (72%) son luminales A mientras que casi un 90% de pacientes con tumores HER2 positivo o triple negativo son clasificados como GH2 o 3²¹. En base a la concordancia con la clasificación molecular, el GH tiene valor pronóstico. Maisonneuve et al²² demostraron que los pacientes GH1 luminales B, tenían un pronóstico mejor que los luminales B de GH2 y 3.

Contrariamente, las pacientes con tumores luminales A de GH3 tenían peor pronóstico que las de GH1 y 2. Sotiriou et al²³ reclasificaron a pacientes con GH2 en dos grupos con comportamiento similar a los de GH1 y 3, caracterizando molecularmente la existencia de un grado intermedio entre los GH1 y 3 con relevancia clínica.

En tumores multifocales se ha observado una variación en el grado histológico en un 5-10% de los casos mientras que el subtipo molecular varía en un 10-20% de las pacientes²⁴ con más de un tumor, por lo que es discutible que la evaluación de más de un foco tenga consecuencias terapéuticas.

Los nuevos test pronósticos basados en estudios genómicos buscan definir y predecir el comportamiento clínico de grupos de pacientes bien definidos. Aunque se ha sugerido que los test genéticos desbancan a los criterios clínico-patológicos clásicos a la hora de definir el pronóstico en pacientes individuales, lo cierto es que se han detectado discrepancias entre ellos. El estudio OPTIMA²⁵ compara diferentes test genéticos [OncotypeDx®, MammaPrint®/BluePrint®, Prosigna®, MammaTyper®, NextCourse Breast by Aqua® (IHC4-AQUA) y el test inmunohistoquímico convencional IHC4] en pacientes con tumores RE positivos y HER2 negativo.

Sólo el 39,4% de los tumores fueron clasificados uniformemente como de bajo riesgo/intermedio o alto riesgo por los diferentes test moleculares y el nivel de concordancia alcanzado entre ellos, aplicados a una misma paciente, es similar al obtenido en la valoración del GH por los diferentes patólogos²⁵.

Adicionalmente, en estudios multivariados que utilizan firmas moleculares, el GH permanece como factor pronóstico independiente en tumores RH positivos⁴ y aunque tiene escaso valor pronóstico en tumores HER2 positivo y en triple negativo, la mayoría de estos tumores son de alto grado (GH3) y expresan firmas genéticas de mal pronóstico. Los clasificadores moleculares como OncotypeDx[®] y MammaPrint[®] tampoco son discriminativos en estos subtipos tumorales.

Una de las críticas que ha recibido el sistema de gradación de Nottingham es la falta de reproducibilidad, pero muchos estudios han mostrado buena concordancia inter e intraobservador⁴, la cual se incrementa cuando se aplican de forma rigurosa las guías de clasificación.

La evaluación de otros parámetros morfológicos, como el tamaño tumoral o de las metástasis ganglionares también son susceptibles de cierta subjetividad. Los tests moleculares también son subjetivos en lo referente a los análisis bioestadísticos empleados, la estabilidad de los subgrupos moleculares identificados en los distintos análisis y la reproducibilidad de los ensayos de extractos celulares no realizados rigurosamente, que pueden estar contaminados por tejido mamario normal o abundante estroma, lo cual puede cambiar los resultados.

También pueden existir discrepancias de muestreo o de heterogeneidad tumoral. Por ello, los estudios moleculares, aunque muy útiles, son complementarios pero no desplazan las variables tradicionales como el GH y su utilización es especialmente válida en tumores GH2.

Take-Home messages: Ideas a retener.

- La aplicación del grado histológico sigue siendo vigente en la evaluación del cáncer de mama. Con material en buenas condiciones y en manos de patólogos expertos en patología mamaria es un método útil, sencillo y de bajo coste en comparación con los estudios genéticos que, al igual que el grado, también ponen de manifiesto la presencia de grupos de riesgo intermedio y que son mucho más dificultosos tanto desde un punto de vista de realización y coste económico como de estandarización.
- Es muy recomendable estandarizar bien la técnica y la valoración por parte de anatomía patológica, con la finalidad de minimizar al máximo la subjetividad en su determinación.

Bibliografía:

1. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991;19(5):403-10.
2. Rakha EA, El-Sayed ME, Lee AHS, et al. Prognostic significance of nottingham histologic grade in invasive breast carcinoma. *J Clin Oncol*. 2008;26(19):3153-8.
3. Start RD, Flynn MS, Cross SS, Rogers K, Smith JH. Is the grading of the breast carcinomas affected by a delay in fixation?. *Virchow Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1991;429(6):475-7.
4. Rakha EA, Reis-Filho JS, Baehner F, et al. Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. *Breast Cancer Res*. 2010;12(4):207.
5. Tresserra F, Martínez Lanao MA, Soler MT. Manejo de las muestras para test inmunohistoquímicos, moleculares y genéticos en el cáncer de mama. *Rev Senol Patol Mamar*. 2016;29(1):26-31.
6. Rakha EA, Green AR. Molecular classification of breast cancer: what the pathologist needs to know. *Pathology*. 2017;49(2):111-9.
7. Aleskandarany MA, Rakha EA, MacMillan RD, et al. MIB1/Ki-67 labelling index can classify grade 2 breast cancer into two clinically distinct subgroups. *Breast Cancer Res Treat*. 2011;127(3):591-9.
8. Rakha EA, El-Sayed ME, Menon S, et al. Histologic grading is an independent prognostic factor in invasive lobular carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res Treat*. 2008;111(1):121-7.
9. Rakha EA, van Deurzen CHM, Paish EC, Macmillan RD, Ellis IO, Lee AHS. Pleomorphic lobular carcinoma of the breast: is it a prognostically significant pathological subtype independent of histological grade?. *Mod Pathol* 2013;26(4):496-501.
10. Pinder SE, Rakha EA, Purdie CA, et al. Macroscopic handling and reporting of breast cancer specimens pre- and post-neoadjuvant chemotherapy treatment: Review of pathological issues and suggested approaches. *Histopathology*. 2015;67(3):279-93.
11. Provenzano E, Bossuyt V, Viale G, et al. Standardization of pathologic evaluation and reporting of postneoadjuvant specimens in clinical trials of breast cancer: recommendations from an international working group. *Modern Pathol* 2015; 28(9):1185-210.
12. Green AR, Soria D, Stephen J, et al. Nottingham Prognostic Index Plus: Validation of a clinical decision making tool in breast cancer in an independent series. *J Pathol Clin Res*. 2016;2(1):32-40.
13. Knuttel FM, Menezes GLG, Van Diest PJ, et al. Meta-analysis of the concordance of histological grade of breast cancer between core needle biopsy and surgical excision specimen. *Br J Surg*. 2016;103(6):644-55.
14. Focke CM, Decker T, van Diest PJ. The reliability of histological grade in breast cancer core needle biopsies depends on biopsy size: a comparative study with subsequent surgical excisions. *Histopathology*. 2016;69(6):1047-54.
15. Morris EA, Liberman L, Trevisan SG, et al. Histologic heterogeneity of masses at percutaneous breast biopsy. *Breast J*. 2002;8(4):187-91.
16. Daveau C, Baulies S, Lalloum M, et al. Histological grade concordance between diagnostic core biopsy and corresponding surgical specimen in HR-positive/HER2-negative breast carcinoma. *Br J Cancer*. 2014;110(9):2195-200.
17. Waaijer L, Willems SM, Verkooijen HM, et al. Impact of preoperative evaluation of tumour grade by core needle biopsy on clinical risk assessment and patient selection for adjuvant systemic treatment in breast cancer. *Br J Surg*. 2015;102(9):1048-55.
18. Ignatiadis M, Sotiriou C. Understanding the molecular basis of histologic grade. *Pathobiology*. 2008;75(2):104-11.
19. Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci US A*. 2001;98(19):10869-74.
20. Tang P, Tse GM. Immunohistochemical surrogates for molecular classification of breast carcinoma: A 2015 Update. *Arch Pathol Lab Med*. 2016;140(8):806-14.
21. Li J, Chen Z, Su K, et al. Clinicopathological classification and traditional prognostic indicators of breast cancer. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(7):8500-5.
22. Maisonneuve P, Disalvatore D, Rotmensz N, et al. Proposed new clinicopathological surrogate definitions of luminal A and luminal B (HER2-negative) intrinsic breast cancer subtypes. *Breast Cancer Res*. 2014;16(3):R65.
23. Sotiriou C, Wirapati P, Loi S, et al. Gene expression profiling in breast cancer: Understanding the molecular basis of histologic grade to improve prognosis. *J Natl Cancer Inst*. 2006;98(4):262-72.
24. Pekar G, Gere M, Tarjan M, et al. Molecular phenotype of the foci in multifocal invasive breast carcinomas: Intertumoral heterogeneity is related to shorter survival and may influence the choice of therapy. *Cancer*. 2014;120(1):26-34.
25. Bartlett JMS, Bayani J, Marshall A, et al. Comparing breast cancer multiparameter tests in the OPTIMA prelim trial: No test is more equal than the others. *J Natl Cancer Inst*. 2016;108(9):1-9.

► Capítulo 9

Afectación ganglionar. Valor de la carga tumoral total.

Laia Bernet Vegué, Vicente Peg Cámara,
David Hardisson Hernández.

1. Introducción.

La observación de que el flujo linfático eferente de las neoplasias sólidas, incluido el cáncer de mama, parece seguir un patrón de diseminación metastásica linfática ordenada da lugar al concepto de ganglio centinela, cuyo origen se remonta a 1948, cuando un estudiante de medicina llamado R. Randall describió por primera vez en cáncer de laringe el primer ganglio en recibir el drenaje linfático del tumor y al que llamó “ganglio delfiano” (en honor al oráculo de Delfos)¹.

En 1977, 30 años más tarde, el urólogo R. Cabanas describió la diseminación linfática ordenada en cáncer de pene y planteó las bases definitivas del concepto de “ganglio centinela” (GC), entendido como el receptor directo o primer receptor de los linfáticos que drenan un determinado tumor².

El promotor definitivo de este nuevo concepto fue Morton quien, en 1992, introdujo un método para la localización intraoperatoria del GC en melanoma maligno cutáneo³.

David Krag, en 1993, publicó el uso de trazadores isotópicos coloideos y una sonda detectora gamma quirúrgica para facilitar la identificación y biopsia del ganglio centinela en cáncer de mama⁴ y A.E. Giuliano, en 1994, introdujo el uso de los colorantes vitales⁵.

Los avances en la detección y evaluación del GC, así como los conocimientos derivados de su estudio, causaron gran revolución en la comunidad científica, que aceptó que el estudio exhaustivo de apenas 1-4 ganglios tenía el mismo valor pronóstico que el estudio convencional de cada uno de los ganglios de la linfadenectomía axilar (LA). El GC, a partir de ese momento, se considera suficiente para estadificar la axila, evitar la linfadenectomía y minimizar la morbilidad derivada de una cirugía más extensa.

La posibilidad de evitar la LA en los casos en que el GC fuese negativo, supuso un reto diagnóstico importante para los patólogos en la década de los 90, cuyo esfuerzo se dirigió no sólo a ofrecer la máxima

información diagnóstica posible sino, además, a ofrecerla en tiempo intraoperatorio para evitar una segunda cirugía sobre la axila.

El estudio exhaustivo del GC en múltiples cortes seriados, cuyo número variaba en función del protocolo aplicado, dio lugar a nuevas definiciones en la 6ª edición del TNM (2002). Se incluyó el término de “micrometástasis” para las metástasis de diámetros comprendidos entre 0,2 y 2 mm. y también se definió, aunque con un significado e implicación clínica inciertos, el término de “células tumorales aisladas” para los implantes de menos de 0,2 mm de diámetro.

La experiencia demostró que el número de metástasis diagnosticadas era directamente proporcional a la exhaustividad del estudio realizado. En consecuencia, se desarrollaron numerosos protocolos diagnósticos basados en citología y/o histología que, por su diversidad, impidieron comparar resultados entre distintos hospitales y obtener conclusiones firmes por la falta de estandarización diagnóstica.

Las diferencias entre protocolos residían no sólo en el número de cortes intraoperatorios recomendados sino también en la inclusión o no de técnicas inmunohistoquímicas intraoperatorias o diferidas, así como en el número de cortes de hematoxilina-eosina a realizar sobre el tejido ganglionar restante de la biopsia intraoperatoria. Se concluyó que el diagnóstico intraoperatorio de 4-6 cortes del GC por congelación era suficiente para el diagnóstico de la mayoría de las macrometástasis (depósito tumoral >2mm), mientras que, en muchos de los casos, el diagnóstico de micrometástasis se realizaba sólo en el estudio histológico diferido del tejido restante de la intraoperatoria.

La falta de estandarización en el diagnóstico, las limitaciones inherentes al procedimiento (mala calidad de los cortes en congelación, baja sensibilidad en carcinomas lobulillares) y la dificultad para el estudio intraoperatorio del GC en su totalidad, motivaron la búsqueda de técnicas y procedimientos moleculares que pudieran mejorar la sensibilidad y especificidad diagnósticas.

La primera herramienta comercialmente disponible para el estudio molecular del ganglio centinela (BLN assay; Veridex, Raritan, NJ USA), detectaba tanto ARNm de Citoqueratina 19 (CK19) como de

mammaglobina, pero no permitía ni el estudio del ganglio completo ni en tiempo intraoperatorio por lo que, finalmente, desapareció del mercado⁶.

Posteriormente, Sysmex™ presentó la técnica OSNA, basada en una RT-LAMP del ARNm de la CK19. La técnica alcanza una sensibilidad cercana al 100% con alta especificidad al usar 6 “primers” específicos y permite el diagnóstico intraoperatorio del ganglio completo a temperatura isotérmica, sin necesidad de purificación previa del RNA. El tiempo requerido para el diagnóstico intra-operatorio del GC por procedimiento OSNA oscila alrededor de 30 minutos.

OSNA trabaja a partir del lisado del GC cuyo sobrante se puede congelar a -80°C para posibles estudios posteriores.

Dado que las definiciones de ITC, micro y macrometástasis incluidas en el TNM 7ª edición, se basan en la medida en milímetros del depósito tumoral, Tsujimoto y cols. llevaron a cabo un estudio de validación que proponía un nuevo punto de corte basado en el número de copias de ARNm de citoqueratina 19: “**células tumorales aisladas**” (<250 copias ARNm CK19/μL), “**micrometástasis**” (250-5000 copias ARNm CK19/μL) y “**macrometástasis**” (>5000 copias ARNm CK19/μL)⁷.

El estudio OSNA de las metástasis en GC condujo a la definición, por parte de un grupo de patólogos españoles, del concepto de “**Carga Tumoral Total**” (CTT). La CTT consiste en el sumatorio del número de copias de ARNm de CK19 que contiene cada uno de los GC estudiados.

2. Valor de la CTT.

Históricamente, la linfadenectomía axilar ha sido considerada como un componente esencial para el tratamiento del cáncer de mama en estadios tempranos, así como un elemento imprescindible para su estadificación. Además, es considerada como un factor pronóstico para la diseminación regional y a distancia, siendo 3 o más ganglios metastásicos un número crítico de mal pronóstico^{9,10}.

Sin embargo, estudios recientes cuestionan la necesidad de la linfadenectomía axilar en grupos de pacientes seleccionados, es decir, con 1 o 2 GC afectados (micro- o macro-), cirugía conservadora e irradiación completa de la mama y tangencial de la axila.

Sin embargo, no existe aún evidencia suficiente para generalizar la omisión de la linfadenectomía a cualquier tipo de paciente y existe cierta controversia al respecto.

Los argumentos a favor de la omisión son que el GC es el único metastásico en aproximadamente el 40% de las pacientes, la menor morbilidad derivada de una cirugía menos extensa, la baja tasa de recidiva regional observada en diferentes estudios¹¹ y el hecho de que la axila es raramente el origen de las metástasis a distancia. También el hecho de que la terapia axilar se basa más en la biología tumoral que en el estado de los ganglios axilares. Numerosos estudios retrospectivos y prospectivos basados en la comparación de GC solo vs GC con linfadenectomía axilar no encuentran diferencias significativas ni en el intervalo libre de enfermedad ni en la supervivencia global^{11,12}.

El principal argumento en contra de la omisión de la linfadenectomía axilar es, a su vez, la pérdida de información de los ganglios axilares que sigue considerándose uno de los principales factores pronósticos en cáncer de mama.

3. ¿Qué información puede aportar el patólogo, en ausencia de linfadenectomía axilar, para el cálculo de riesgo de recidiva?

Partiendo del estudio OSNA del GC, la correlación entre la CTT y el estudio histológico de la linfadenectomía axilar permitió definir un punto de corte alrededor de 15.000 copias de ARNm-CK19/uL para discriminar las pacientes de “**bajo riesgo**” (<15.000) de las de “**alto riesgo**” (>15.000) de presentar afectación axilar de los ganglios no-centinela.

La identificación de este punto de corte aporta una información de alto impacto al añadir, al valor diagnóstico del GC, la capacidad de predecir la afectación metastásica de los ganglios axilares no-centinela^{8,13-17}. En consecuencia, algunos autores defendieron que la CTT era un parámetro a tener en cuenta en la decisión quirúrgica sobre la axila al tener mayor valor pronóstico que el número de ganglios metastásicos¹⁸, y algunas sociedades científicas incorporaron la evaluación de la CTT entre sus recomendaciones^{19,20}.

Posteriormente, Peg y cols. estudiaron el valor pronóstico de la CTT “**per se**” en un intento de evaluar

el riesgo de las pacientes que, aún con GC metastásico, no eran candidatas a la LA. Para ello, evaluaron la CTT en una cohorte de 950 pacientes con un seguimiento mínimo de 5 años. El estudio estadístico demostró que 25.000 copias de ARNm-CK19 constituye un punto de corte que separa dos grupos pronósticos distintos (“bajo riesgo” y “alto riesgo”), tanto para el intervalo libre de enfermedad como para la supervivencia global²¹.

4. ¿Es útil en la práctica clínica el concepto de CTT?

La decisión quirúrgica de realizar linfadenectomía axilar o no en cada caso individual se basa, fundamentalmente, en el riesgo de afectación metastásica de los ganglios no-centinela de la axila, que puede establecerse bien a partir del diagnóstico histológico del/los GC, bien a partir del estudio molecular de/los GC, basado en el número de copias del ARNm-CK19. Frente a los criterios (histológicos) del estudio ACO-SOG Z0011¹², cuyo riesgo de enfermedad residual en caso de omisión de la cirugía axilar es del 27,4%, la CTT como criterio para la decisión quirúrgica sobre la axila, tiene un riesgo de enfermedad axilar residual del 14,7%. Es decir, la CTT permite evitar la linfadenectomía axilar en un número mayor de pacientes que los seleccionados según los criterios del ACO-SOG Z0011.

Por contraposición las dificultades inherentes al método histológico para determinar el volumen tumoral del/los GC y estimar el riesgo de enfermedad residual, la CTT representa una evaluación intraoperatoria numérica, objetiva y reproducible del riesgo que facilita la toma de decisiones quirúrgicas sobre la axila.

5. ¿Puede la CTT aportar también valor al oncólogo médico?

Los criterios básicos para la indicación de quimioterapia se basan tanto en la biología de cada tumor individual como en el riesgo de recidiva y muerte de cada paciente. En este cálculo de riesgo, la evaluación de los ganglios axilares constituye un punto fundamental, especialmente relevante para los tumores luminal B, en los que el conocimiento del estado de la axila adquiere especial relevancia para la indicación de quimioterapia. En este contexto, la estimación del

riesgo de enfermedad axilar residual a través de la CTT puede ser un criterio útil para decidir la indicación de quimioterapia.

La información del estado de los ganglios axilares es importante también para la definición de los campos a irradiar por el oncólogo radioterápico. En ausencia de esta información, el 23,7% de las pacientes tratadas con mastectomía y con más de 4 ganglios axilares metastásicos, podrían estar infra-estadiadas y no recibir tratamiento radioterápico²².

6. ¿Puede la CTT aportar también valor al oncólogo radioterápico?

La CTT, por su capacidad de predecir la afectación de ganglios linfáticos no centinela y para el cálculo de riesgo de recidiva axilar, puede ser un subrogado útil para la toma de decisiones por el oncólogo radioterápico acerca de los campos a irradiar.

☞ Take-Home messages: Ideas a retener.

- Los cambios conceptuales experimentados en los últimos años hacia una cirugía capaz de minimizar la morbilidad de la LA, sin perder información acerca del estado de los ganglios axilares nos obliga a la inclusión, en la práctica clínica, de procedimientos diagnósticos sencillos, exhaustivos y reproducibles que faciliten la evaluación del riesgo de recidiva y muerte de manera tan sensible y específica como, por lo menos, la del estudio histológico de los ganglios de la linfadenectomía axilar.
- La CTT es, actualmente, el criterio más objetivo y reproducible para el cálculo de riesgo de enfermedad axilar residual a partir del estudio del/los GC. La CTT, con un punto de corte de 25.000 copias de ARNm-CK19, discrimina dos grupos pronósticos claramente diferenciados (alto y bajo riesgo) con un seguimiento de 5 años.
- La CTT permite la inclusión de cada paciente individual en uno de los dos grupos de riesgo, facilitando la toma de decisiones terapéuticas, tanto quirúrgicas como médicas de manera individualizada.

Bibliografía:

- Alex JC, Krag DN, Harlow SP, et al. Localization of regional lymph nodes in melanomas of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1998;124:135-40.
- Cabanas RM: An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer* 1977;39:456-66.
- Morton DL, Wen DR, Wong JH, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992;127:392-9.
- Krag DN, Weaver DL, Alex JC, et al. Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. *Surg Oncol* 1993;2(6):335-9. Discussion 340.
- Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, et al. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg* 1994;220:391-8. Discussion 398-401.
- Blumencranz P, Whitworth PW, Deck K, et al. Scientific Impact Recognition Award. Sentinel node staging for breast cancer: intraoperative molecular pathology overcomes conventional histologic sampling errors. *Am J Surg* 2007;194(4):426-32.
- Tsujimoto M, Nakabayashi K, Yoshidome K, et al. One-step nucleic acid amplification for intraoperative detection of lymph node metastasis in breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2007;13(16):4807-16.
- Peg V, Espinosa-Bravo M, Vieites B, 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):87-93.
- Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol* 2013;24(9):2206-23.
- Untch M, Gerber B, Harbeck N, et al. 13th st. Gallen international breast cancer conference 2013: primary therapy of early breast cancer evidence, controversies, consensus - opinion of a german team of experts (Zurich 2013). *Breast Care (Basel)* 2013;8(3):221-9.
- Galimberti V, Cole BF, Zurrada S, 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):297-305.
- Giuliano AE, Hunt KK, Ballman KV, et al. Axillary dissection vs no axillary dissection in women with invasive breast cancer and sentinel node metastasis: a randomized clinical trial. *JAMA* 2011;305(6):569-75.
- Espinosa-Bravo M, Sansano I, Pérez-Hoyos S, 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;39(7):766-73.
- Rubio IT, Espinosa-Bravo M, Rodrigo M, et al. Nomogram including the total tumoral load in the sentinel nodes assessed by one-step nucleic acid amplification as a new factor for predicting nonsentinel lymph node metastasis in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2014;147(2):371-80.
- Osako T, Iwase T, Kimura K, et al. Sentinel node tumour burden quantified based on cytokeratin 19 mRNA copy number predicts non-sentinel node metastases in breast cancer: molecular whole-node analysis of all removed nodes. *Eur J Cancer* 2013;49(6):1187-95.
- Piñero A, Canteras M, Moreno A, et al. Multicenter validation of two nomograms to predict non-sentinel node involvement in breast cancer. *Clin Transl Oncol* 2013;15(2):117-23.
- Deambrogio C, Castellano I, Paganotti A, et al. A new clinical cut-off of cytokeratin 19 mRNA copy number in sentinel lymph node better identifies patients eligible for axillary lymph node dissection in breast cancer. *J Clin Pathol* 2014;67(8):702-6.
- Ohi Y, Umekita Y, Sagara Y, et al. Whole sentinel lymph node analysis by a molecular assay predicts axillary node status in breast cancer. *Br J Cancer* 2012;107(8):1239-43.
- Banerjee SM, Williams NR, Davidson TI, 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;42(5):641-9.
- Bernet L, Piñero A, Vidal-Sicart S, et al. Consensus on sentinel lymph node biopsy in breast cancer. Review of the Spanish Society of Senology and Breast Pathology 2013. *Rev Esp Patol* 2014;47:22-32.
- Peg V, Sansano I, Vieites B, et al. Role of total tumour load of sentinel lymph node on survival in early breast cancer patients. *Breast* 2017;33:8-13.
- Hussain T, Kneeshaw PJ. Axillary lymph node clearance in patients with positive sentinel lymph node biopsy. *Ann R Coll Surg Engl* 2014;96(3):199-201.

► Capítulo 10

Inmunidad y cáncer de mama. Infiltración linfocitaria peritumoral (TILs).

Alicia Cazorla Jiménez, Federico Rojo Todo,
Álvaro Trascasa Caño.

1. Introducción.

El rol fundamental del sistema inmune en la homeostasis tisular mediante la activación e inactivación de la respuesta inflamatoria es bien conocido¹. La transformación neoplásica altera la estructura celular activando la respuesta inmune para la eliminación de tumores incipientes. Cuando la eliminación es incompleta, las células neoplásicas escapan al control inmune creciendo de forma descontrolada. Este proceso se conoce como **“teoría de inmuoedición del cáncer”** y define la progresión maligna en base a las características tumorales y su interacción con las células inmunes peritumorales en tres fases: eliminación, equilibrio y escape². La mayoría de pacientes son diagnosticadas en fase de escape, pero aún en estadios avanzados de la enfermedad la respuesta inmune influye en el pronóstico de la paciente.

En los últimos años, se han desarrollado nuevas terapias que regulan la actividad inflamatoria antitumoral, utilizándose en la práctica clínica y mejorando el pronóstico y la supervivencia en algunos tipos tumorales, principalmente melanoma y carcinoma pulmonar no microcítico^{3,4}. Además varios estudios han asociado la presencia de infiltrado linfocítico peritumoral, referido en la bibliografía médica como TILs (del inglés Tumor-Infiltrating Lymphocytes) se asocia a mejor pronóstico y respuesta al tratamiento quimioterápico^{5,6}. Algunos de esos estudios evalúan la presencia y el valor pronóstico de los TILs en cáncer de mama⁷.

2. Subtipos celulares de TILs en cáncer de mama.

Diferentes estudios demuestran una asociación significativa entre la presencia de determinados subtipos celulares inmunes y el comportamiento clínico en distintos tumores sólidos en humanos. En cáncer de mama, la presencia de LT CD8 citotóxicos peritumorales se ha asociado a mayor supervivencia y mejor respuesta al tratamiento⁸. Los LT CD4 reguladores se han asociado a mejor y peor pronóstico⁹⁻¹⁰. Del resto de los subtipos de LT CD4, las células Th1 y las células Th foliculares se asocian a mejor pronóstico clínico y respuesta al tratamiento¹¹, mientras que las células Th2 producirían peor respuesta inmune antitumoral¹². El valor de las células linfoides de estirpe B en estos infiltrados está aún por aclarar. Una evaluación enfocada de subtipos celulares individuales puede tener un valor limitado en la práctica diaria aunque sí en el ámbito de la investigación.

Independientemente de la heterogeneidad funcional del infiltrado inflamatorio peritumoral, el grado de dicho infiltrado evaluado en cortes convencionales con hematoxilina y eosina (HE), ha demostrado tener un valor predictivo y pronóstico en los subtipos de cáncer de mama triple negativo¹³ y HER2 positivo¹⁴.

Los carcinomas de mama ricos y pobres en TILs parecen reflejar cada uno una biología tumoral distinta con diferente susceptibilidad a la terapia. La variabilidad en la respuesta inmune dentro de un mismo tumor ha sido detectada, lo que sugeriría que la interacción entre sistema inmune y tumor podría ir en paralelo a la heterogeneidad tumoral descrita en cáncer de mama.

A pesar de la incapacidad del sistema inmunitario para rechazar un tumor clínicamente detectable, una respuesta inmune organizada en el sitio del tumor puede indicar la generación de memoria inmunológica con el potencial de controlar eficazmente la enfermedad residual¹⁵.

3. Evaluación de los TILs en cáncer de mama.

Dada la importancia de la presencia de los TILs en cáncer de mama, en febrero de 2015 se publicó un documento de consenso que sirve como guía para su evaluación¹⁶. Dicho consenso es el resultado de la colaboración de un grupo internacional de expertos investigadores y clínicos en cáncer de mama. El objetivo de ese documento es dar a conocer a los patólogos la importancia de la presencia de los TILs en cáncer de mama, así como elaborar

unas recomendaciones sobre la valoración de los TILs útiles no sólo en el ámbito de la investigación traslacional y de ensayos clínicos, sino también en la práctica diaria. Este consenso se centra en qué áreas deben evaluarse los TILs, cómo realizar una cuantificación objetiva y el porqué de su importancia clínica. Dichas recomendaciones técnicas y prácticas se encuentran resumidas en la [Tabla 10.1](#).

► Recomendaciones para la evaluación de los TILs en cáncer de mama
1. Los TILs deben ser valorados en el compartimento estromal (% de TILs estromales). El denominador utilizado es el área que ocupan las células mononucleares inflamatorias en el estroma tumoral entre el área total estromal.
2. Los TILs deben ser evaluados en los márgenes del tumor invasivo.
3. Deben excluirse de la valoración los TILs situados fuera del margen tumoral y los que rodean focos de carcinoma <i>in situ</i> y lóbulos mamarios no tumorales.
4. Deben excluirse los TILs en zonas donde existe artefacto de corte, necrosis, hialinización estromal regresiva y lechos de biopsias previas.
5. Deben incluirse todas las células mononucleares, incluyendo linfocitos y plasmáticas, excluyendo los leucocitos polimorfonucleares.
6. La evaluación de una sección histológica de 4-5 µm con una magnificación de x200-x400 por paciente se considera actualmente suficiente.
7. Son preferibles las secciones completas del tumor sobre los cortes de biopsias diagnósticas tipo cilindro. Estas últimas pueden ser usadas para la evaluación previa a terapia neoadyuvante, aunque la metodología en estos casos no ha sido validada.
8. Se debe informar una media de los TILs dentro del área tumoral, no centrándose en los focos con mayor actividad.
9. El consenso del grupo de trabajo es que los TILs pueden proporcionar información biológica más relevante cuando se puntúa como una variable continua, ya que esto permitirá análisis estadísticos más precisos, y que posteriormente puedan ser categorizados alrededor de diferentes rangos o puntos de corte. El patólogo debe gradar los TILs con el mayor detalle posible.
10. Los TILs deben ser evaluados como un parámetro continuo. El porcentaje de TILs estromales es un parámetro semicuantitativo. Por ejemplo, un 80% de TILs estromales significa que el 80% de la zona estromal muestra un denso infiltrado mononuclear. Para la evaluación de los valores porcentuales, es necesario tener en cuenta el patrón de crecimiento disgregado de los linfocitos, que no forman agregados celulares sólidos; por lo tanto, la designación de 100% de TILs estromales todavía permitiría un cierto espacio de tejido vacío entre los linfocitos individuales.
11. En la actualidad no se puede dar ninguna recomendación formal para un umbral o punto de corte de TILs clínicamente relevante. El consenso es que una metodología válida es actualmente más importante que el establecimiento de rangos para el uso clínico, que se determinará una vez que haya un método sólido. El cáncer de mama de predominio linfocito puede usarse como un término descriptivo para tumores que contienen “más linfocitos que células tumorales”. Sin embargo, los umbrales varían entre 50% y 60% de linfocitos estromales.

Tabla 10.1. Recomendaciones para la evaluación de los TILs en cáncer de mama.

▼ Cuestiones técnicas para la evaluación de los TILs en cáncer de mama:

- 1/ Se recomienda la valoración de los TILs con objetivos de x20 y x40 (es decir una magnificación total de x200 y x400 respectivamente añadiéndole los x10 aumentos de los oculares).
- 2/ En cuanto al corte, se considera óptimo un grosor de 4-5 micras obtenido a partir de muestras tisulares fijadas en formol y embebidas en parafina, el habitual utilizado tanto en la práctica diaria como en los trabajos de investigación publicados previamente donde se evalúan y cuantifican los TILs. La fiabilidad de la cuantificación en cortes de congelación está poco documentada y no es recomendada en la práctica diaria.
- 3/ Los TILs pueden ser evaluados en biopsias de tipo cilindro en el contexto de terapia neoadyuvante y en secciones completas de pieza quirúrgicas en el contexto de terapia adyuvante. En ambos casos, se considera suficiente la evaluación de una sola sección. Aunque existen algunos estudios que informan de la relevancia pronóstica de los TILs en piezas quirúrgicas tras neoadyuvancia¹⁷, se necesitan más estudios sobre su evaluación y no hay recomendaciones metodológicas al respecto.
- 4/ Los matrices tisulares o TMAs (tissue microarrays) no se recomiendan para la evaluación de los TILs. Dichos materiales podrían no reflejar la heterogeneidad tumoral, no está definido el número de cilindros que debe incluirse de cada caso ni el diámetro de los mismos. No obstante, existen algunas publicaciones en las que el uso de TMAs muestran datos similares a otros estudios en los que se valoran cortes completos del tumor¹⁰.
- 5/ Todas las células mononucleares deben ser consideradas, incluyendo linfocitos y células plasmáticas y excluyendo leucocitos polimorfonucleares y otros granulocitos. La cuantificación de otras células mononucleares, como macrófagos y células dendríticas, no está recomendada actualmente y es difícil en la práctica diaria.
- 6/ Aunque en varios estudios publicados se utiliza la inmunohistoquímica para la subtipificación de la población linfoide especialmente CD8, el documento de consenso no recomienda su uso fuera del entorno de la investigación hasta que no exista mayor evidencia clínica sobre su utilidad.
- 7/ La cuantificación automatizada no ha mostrado una metodología consistente en grandes series, aunque representa un amplio campo de estudio en el futuro.
- 8/ En la actualidad se desconoce la utilidad de la tipificación de los TILs según su perfil proteico o de RNA en comparación con las técnicas morfológicas habituales. Existen nuevas tecnologías que en el futuro podrían suministrar información sobre perfiles basados en la expresión proteica y conducir al desarrollo de marcadores inmunes específicos.

4. Consideraciones prácticas para la cuantificación de los TILs.

Una de las principales dudas del patólogo a la hora de evaluar los TILs es en qué área realizar el conteo y cuáles son las células a cuantificar. Se define como TILs aquellos linfocitos situados dentro del lecho del carcinoma invasivo; se pueden subclasificar en dos tipos los TILs estromales y los TILs intratumorales.

► Los TILs estromales:

Son aquellos situados en el estroma peritumoral, es decir, el estroma que queda entre los nidos tumorales (Fig. 10.1); estos son los considerados por los datos previamente publicados como el parámetro estándar, ya que se asocian a mejor respuesta al tratamiento neoadyuvante y adyuvante.

► Los TILs intratumorales:

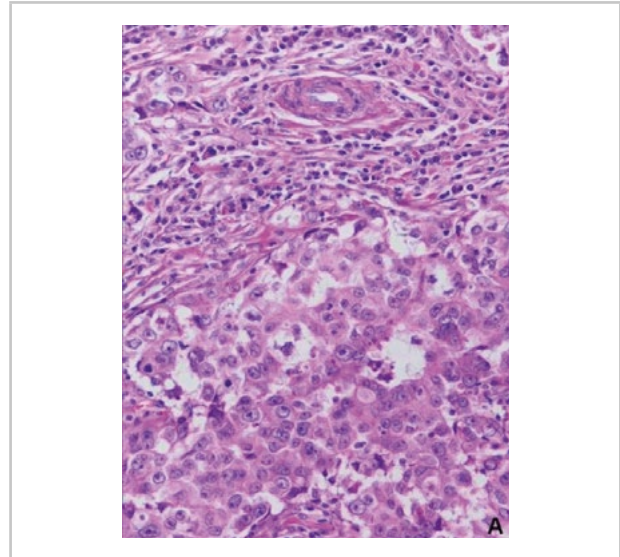
Son aquellos situados en el interior de los nidos neoplásicos en contacto directo célula a célula con el tumor. Aunque estos se han considerado como los verdaderos TILs, dado que reflejan el efecto antitumoral inmune, lo cierto es que no aportan datos pronósticos ni de respuesta al tratamiento distintos a los estromales. Además desde el punto de vista práctico son más difíciles de evaluar, por lo que en la rutina diaria no se recomienda evaluarlos de forma independiente.

► Carcinomas de mama de predominio linfocítico:

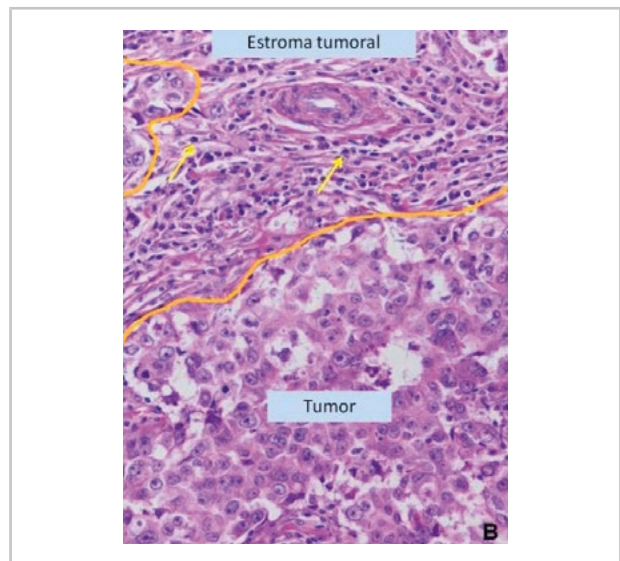
Son un subgrupo de tumores con un 50-60% de TILs. Dichos tumores se han utilizado en la mayoría de los trabajos de investigación como subgrupo de análisis en relación al pronóstico y respuesta terapéutica, aunque dicho umbral no ha sido aun claramente definido en la rutina habitual.

► Las estructuras linfoides terciarias:

Son aquellos focos inflamatorios de predominio linfoide situados en la periferia tumoral rodeando a lobulillos mamarios no tumorales o a focos de carcinoma *in situ*; estas estructuras terciarias no han de valorarse como TILs.



A. En la imagen de arriba se observan un carcinoma ductal infiltrante de alto grado y crecimiento sólido con moderada inflamación asociada.

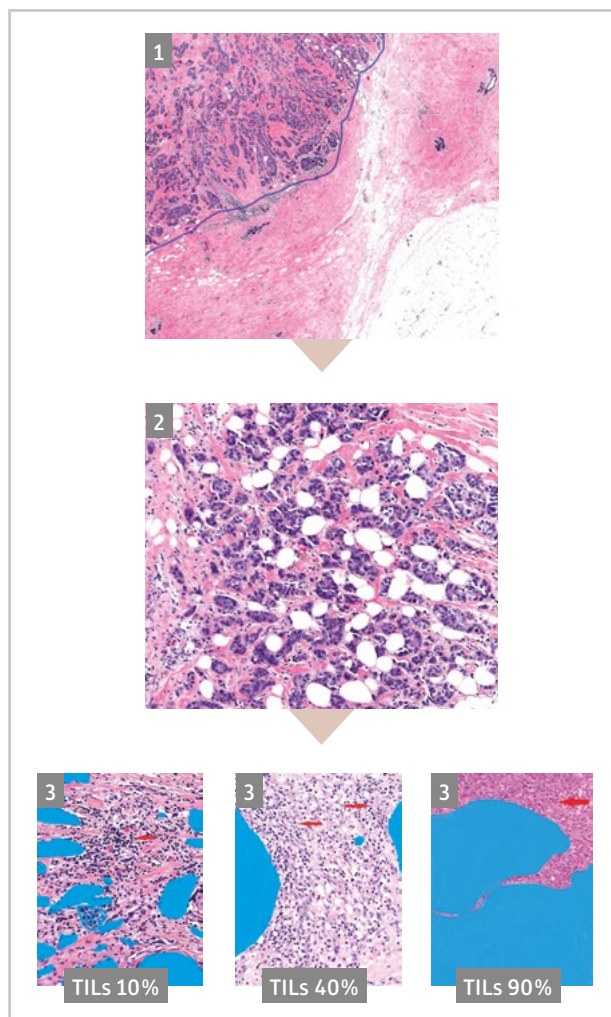


B. En la imagen de arriba, delimitado por línea naranja y en la parte inferior e izquierda quedan los nidos tumorales epiteliales; superior a la línea se observa el estroma tumoral con presencia de TILs estromales (flechas amarillas), en una proporción del 35%.

Figura 10.1. Los TILs estromales.

El procedimiento a seguir para la correcta gradación de los TILs debe ser: Fig. 10.2

- 1/ Delimitar el lecho del carcinoma invasivo.
- 2/ Valorar a bajo aumento las distintas áreas estromales con respuesta inflamatoria.
- 3/ Definir el área estromal dentro del tumor.
- 4/ Evaluar a gran aumento (x200-x400), la composición celular en esas áreas, evitando zonas con artefacto técnico, necrosis, inflamación polinuclear y lecho cicatricial de biopsias previas.
- 5/ Cuantificar el porcentaje de células mononucleares (linfocitos y células plasmáticas) en relación al área de estroma que ocupan. En caso de mostrar heterogeneidad con zonas de distinta densidad celular, se gradará en distintos campos y se informará un contaje medio de los mismos; no es correcto valorar sólo las áreas más celulares.
- 6/ El porcentaje de TILs debe informarse de forma numérica y precisa.



1. Delimitar el margen tumoral.

2. Valorar a bajo aumento los distintos campos tumorales.

3. A mayor aumento, definir el área estromal tumoral (flechas rojas), obviando los nidos neoplásicos (marcados en azul), evaluar la celularidad inflamatoria presente y calcular el porcentaje de TILs en esa área. Las imágenes inferiores corresponden a distintos casos de carcinoma ductal infiltrante, con diferentes % de TILs en un espectro que va desde el 10% al 90%.

Figura 10.2. Procedimiento esquematizado sobre la cuantificación de los TILs.

5. Relevancia clínica de los TILs y validación clínica.

Como ya se ha descrito previamente la presencia de los TILs en cáncer de mama se ha asociado a mejor pronóstico y respuesta al tratamiento quimioterápico, especialmente en algunos subtipos moleculares tumorales.

En tratamiento adyuvante en cáncer de mama triple negativo¹³, los TILs son marcadores predictivos de respuesta al tratamiento con antraciclinas mejorando el intervalo libre de enfermedad y la supervivencia global. Además, actúan de forma proporcional, es decir a mayor cantidad de TILs mejor respuesta clínica. Respecto al subtipo HER2 positivo¹⁴, los TILs también se asocian a mejor pronóstico en pacientes tratadas con trastuzumab, lapatinib o ambos en asociación con quimioterapia incrementando el intervalo libre de enfermedad. A pesar de estos datos, aun no puede establecerse la presencia de TILs como factor de decisión en la elección del tratamiento adyuvante con trastuzumab. En el caso de tumores de tipo luminal la relación entre la presencia de los TILs y el pronóstico no ha sido establecida.

En tratamiento neoadyuvante, la presencia de TILs se asocia a mayor tasa de respuesta completa al mismo, de forma independiente a otros factores pronósticos como el tipo o grado tumoral y del tratamiento¹⁷⁻¹⁹.

☞ Take-Home messages: Ideas a retener.

- La correcta identificación y cuantificación de los TILs en cáncer de mama es importante dado que se consideran un factor de buen pronóstico, además de factor predictivo de respuesta a terapia neoadyuvante y adyuvante, especialmente en los subgrupos triple negativo y HER2.
- Se considera necesario el uso de una correcta metodología en su evaluación, con el fin de homogeneizar los resultados, evitar la variabilidad entre patólogos y mejorar su reproducibilidad. En años venideros y conforme avancen los estudios será necesario establecer umbrales para su cuantificación, que permitan usar los TILs como biomarcadores en investigación y ensayos clínicos.
- Debe profundizarse en la relevancia de las distintas poblaciones celulares que los componen y su relación con la progresión tumoral, incluyendo técnicas moleculares que nos permitan identificar nuevas dianas terapéuticas.

☞ Bibliografía:

1. Demaria S, Pikarsky E, Karin M, et al. Cancer and inflammation: promise for biologic therapy. *J Immunother* 2010;33(4):335-51.
2. Mittal D, Gubin MM, Schreiber RD, et al. New insights into cancer immunoediting and its three component phases-elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol*. 2014;27:16-25.
3. Taube JM, Klein A, Brahmer JR, et al. Association of PD-1, PD-1 ligands, and other features of the tumor immune microenvironment with response to anti-PD1 therapy. *Clin Cancer Res*. 2014;20(19):5064-74.
4. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 2012;12(4):252-64.
5. Aaltomaa S, Lipponen P, Eskelinen M, et al. Lymphocyte infiltrates as a prognostic variable in female breast cancer. *Eur J Cancer* 1992;28(4-5):859-64.
6. Schmidt M, Böhm D, von Töme C, et al. The humoral immune system has a key prognostic impact in node-negative breast cancer. *Cancer Res* 2008;68(3):5405-13.
7. An T, Sood U, Pietruk T, et al. In situ quantitation of inflammatory mononuclear cells in ductal infiltrating breast carcinoma. Relation to prognostic parameters. *Am J Pathol* 1987;128(1):52-60.
8. Seo AN, Lee HJ, Kim EJ, et al. Tumour-infiltrating CD8+ lymphocytes as an independent predictive factor for pathological complete response to primary systemic therapy in breast cancer. *Br J Cancer* 2013;109(10):2705-13.
9. Gobert M, Treilleux I, Bendriss-Vermare N, et al. Regulatory T cells recruited through CCL22/CCR4 are selectively activated in lymphoid infiltrates surrounding primary breast tumors and lead to an adverse clinical outcome. *Cancer Res* 2009;69(5):2000-9.
10. West NR, Kost SE, Martin SD, et al. Tumour-infiltrating FOXP3 (+) lymphocytes are associated with cytotoxic immune responses and good clinical outcome in oestrogen receptor-negative breast cancer. *Br J Cancer* 2013;108(1):155-62.
11. Gu-Trantien C, Loi S, Garaud S, et al. CD4 (+) follicular helper T cell infiltration predicts breast cancer survival. *J Clin Invest* 2013;123(7): 2873-92.
12. Teschendorff AE, Gomez S, Arenas A, et al. Improved prognostic classification of breast cancer defined by antagonistic activation patterns of immune response pathway modules. *BMC Cancer* 2010;10:604.
13. Adams S, Grey RJ, Demaria S, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancers from two phase III randomized adjuvant breast cancer trials: EOC2197 and EOC1199. *J Clin Oncol*. 2014;32(27):2959-66.
14. Loi S, Michiels S, Salgado R, et al. Tumor infiltrating lymphocytes are prognostic in triple negative breast cancer and predictive for trastuzumab benefit in early breast cancer: results from the FINHER trial. *Ann Oncol*. 2014;25(8):1544-50.
15. Almendro V, Kim HJ, Cheng YK, et al. Genetic and phenotypic diversity in breast tumor metastases. *Cancer Res* 2014;74(5):1338-48.
16. Salgado R, Denkert C, Demaria S, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol*. 2015;26(2):259-71.
17. Dieci MV, Criscitiello C, Goubar A, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes on residual disease after primary chemotherapy for triple-negative breast cancer: a retrospective multicenter study. *Ann Oncol*. 2014;25(7):611-8.
18. Denkert C, Loibl S, Noske A, et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010;28(1):105-13.
19. Lee HJ, Seo JY, Ahn JH, et al. Tumor-associated lymphocytes predict response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *J Breast Cancer* 2013;16(1):2-9.

► Capítulo 11

Invasión vascular, linfática y perineural.

Alicia Cazorla Jiménez, Federico Rojo Todo, José Ignacio Cornejo Ladrero.

1. Invasión tumoral vascular y linfática en cáncer de mama.

La presencia de invasión tumoral linfática y vascular es un factor pronóstico adverso en cáncer de mama y se relaciona con mayor recurrencia local, menor supervivencia global e intervalo libre de enfermedad¹⁻⁴, por lo que su registro en los informes anatomopatológicos es considerado mandatorio. En los protocolos actuales y dada la dificultad en ocasiones de distinguir entre vasos capilares venosos y linfáticos, no es obligatoria la distinción entre ambos tipos vasculares, refiriéndose de forma genérica como invasión linfovascular (ILV) en los informes^{5,6}. No obstante, la invasión tumoral linfática es el principal factor de riesgo para la afectación nodal axilar, que es el más importante predictor de pronóstico en cáncer de mama.

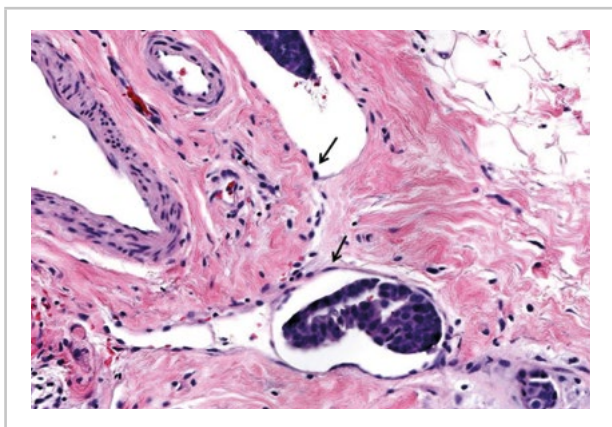


Figura 11.1. Presencia de invasiones tumorales linfovascuales, donde se observa la presencia de nidos tumorales en el interior de estructuras vasculares. Dichos canales vasculares están tapizados por células endoteliales (flechas). Corte teñido con HE x20.

▼ Evaluación morfológica de las ILV.

Se define como invasión linfovascular a la presencia de nidos tumorales en la luz de estructuras vasculares linfática o venosa (Fig. 11.1). Uno de los mayores problemas para su diagnóstico es la presencia de artefacto de retracción en el tejido desmoplásico

peritumoral, por lo que se recomienda una correcta fijación y procesamiento de la muestra. Los criterios diagnósticos para las ILV fueron establecidos por Rosen⁷ y se encuentran especificados en la Tabla 11.1.

El endotelio vascular delineando los canales vasculares debe ser identificado para considerar como positiva la ILV. La presencia de tumor en los canales linfovascuales de forma inequívoca debe registrarse como “positiva o presente”; en casos dudosos, pero probables, debe registrarse como “incierto” y en aquellos en los que no se identifiquen como “negativa o no presente”.

Existen rasgos morfológicos que ayudan a la identificación de la ILV como son:

- 1/ La presencia de células tumorales en espacios vacíos, rodeados por células endoteliales, situados en el borde del tumor.
- 2/ La presencia de canales vasculares adyacentes agrupados y con frecuencia de distinto calibre.
- 3/ La presencia endoluminal de hematíes o trombos de fibrina.
- 4/ En casos de artefacto de retracción, los nidos epiteliales mantienen la misma forma que el espacio en el que se encuentra; en las ILV verdaderas suelen tener morfología más variable.

► Criterios diagnósticos de Invasión linfovascular según Rosen.

1.	La ILV debe ser objetivada en el exterior del margen del carcinoma invasivo. El área más frecuente se encuentra a 1 mm del mismo.
2.	El émbolo tumoral no mantiene la forma exacta del contorno del espacio en el cual se encuentra, al contrario que la falsa imagen de ILV provocada por artefacto de retracción que mantiene la misma forma.
3.	Los núcleos de las células endoteliales deben ser identificados delineando el espacio vascular.
4.	Los vasos linfáticos a menudo se encuentran adyacentes y rodeando parcialmente a los vasos venosos.

Tabla 11.1. Criterios diagnósticos de Invasión linfovascular según Rosen.

Como se ha comentado previamente, el mejor método para el correcto diagnóstico de las ILV es el estudio de cortes de buena calidad teñidos con hematoxilina-eosina (HE) correctamente fijados y procesados. El uso de técnicas inmunohistoquímicas (IHQ) complementarias puede ser de utilidad en los casos dudosos, siendo los marcadores de endotelios vasculares más utilizados CD34 y CD31. Aunque no es obligatorio, el uso de marcadores IHQs específicos para linfáticos como Podoplanina (D2-40) puede ayudar a su distinción y se ha asociado en algún trabajo a mayor riesgo de afectación nodal axilar⁸.

▼ Relevancia clínica de las ILV en pacientes con cáncer de mama.

La principal causa de muerte por cáncer de mama es la diseminación metastásica del tumor, siendo con frecuencia la afectación nodal axilar el primer escalón de la misma. La presencia de metástasis axilares representa un criterio importante para evaluar el pronóstico y el tratamiento de estos pacientes^{9,10} y el principal factor de riesgo es la presencia de ILV en el tumor.

Aunque en la práctica la diferenciación entre invasión vascular linfática vs venosa no es obligatorio, existen estudios en los que se establece su frecuencia por separado y su relación con el pronóstico en pacientes con cáncer de mama.

Las invasiones linfáticas son más frecuentes y tempranas que las venosas, con incidencias que rondan el 30-33% de los casos frente a un 2-4% en el caso de las venosas¹¹. La presencia de ambas se asocia a mayor afectación nodal axilar, tumores de mayor tamaño y alto grado; las linfáticas son más frecuentes en pacientes perimenopáusicas con carcinoma ductal infiltrante, mientras las venosas no se asocian con el estatus menopáusico ni con el tipo histológico¹². La afectación vascular linfática está significativamente asociada a peor supervivencia global y menor intervalo libre de enfermedad en análisis uni y multivariante, lo que la convierte en un importante factor pronóstico independientemente de la afectación axilar, tipo histológico y tamaño tumoral. La invasión vascular venosa, por sí sola, no posee ese rol pronóstico y además su frecuencia es mucho menor, por lo que se pone en duda la necesidad de incluir técnicas complementarias que permitan su distinción de la invasión linfática, mucho más frecuente.

La mayor tendencia a las ILV en algunos tumores, viene dada por la biología tumoral¹³. Se ha observado mayor densidad microvascular linfática en algunas neoplasias, correlacionándose dicho dato con mayor número de ILV y con mayor riesgo de metástasis ganglionar^{14,15}. El perfil de expresión génica del tumor le permitiría regular el entorno favoreciendo la proliferación vascular, mediante la síntesis de moléculas como VEGF. Los tumores con mayor densidad neovascular en el lecho tumoral son carcinomas peor diferenciados con mayor tasa de proliferación, lo que favorece la ILV. Además se postula que los vasos neoformados pueden sintetizar moléculas con capacidad de atracción hacia las células tumorales¹⁶. Esta interacción entre factores provasculares y células tumorales podría ser utilizada como diana terapéutica en el futuro.

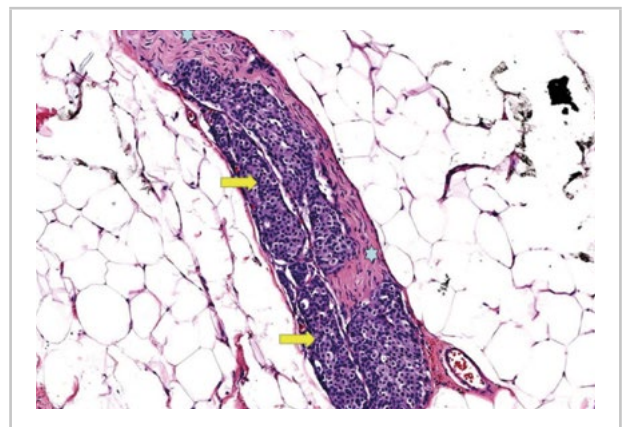


Figura 11.2. Imagen de invasión tumoral perineural donde se objetiva la presencia de nidos tumorales (flechas amarillas) rodeando un nervio periférico situado en el tejido adiposo peritumoral (asteriscos azules). Corte teñido con HE x20.

2. Invasión tumoral perineural en cáncer de mama.

Se define la invasión tumoral perineural como la presencia de nidos de carcinoma infiltrante rodeando nervios periféricos a lo largo de su trayecto en la proximidad del margen tumoral. **Fig. 11.2**

La invasión tumoral perineural (IPN) es un marcador de agresividad tumoral, incluso un factor pronóstico negativo en carcinomas de distintas localizaciones, especialmente pancreáticos. Sin embargo, su incidencia en cáncer de mama es muy baja y su efecto sobre el pronóstico de la enfermedad es poco relevante, siendo un dato de uso no obligatorio en los protocolos de esta enfermedad aunque sí recomendable.

La IPN en cáncer de mama ocurre con una frecuencia diez veces menor a las ILV, con una incidencia entre un 1 y 4% dependiendo de las escasas series publicadas¹⁷. En series de pacientes occidentales, la IPN es más frecuente en tumores de alto grado o poco diferenciados, en estadios avanzados y se asocia con frecuencia a ILV. En una revisión procedente de la India donde se revisan 518 cánceres de mama, se observa IPN en un 4.2 % de los casos, con mayor frecuencia en tumores de mayor tamaño y bajo grado histológico¹⁷. En esta serie, tanto la presencia de IPN como de ILV, se asocia a peor pronóstico en términos de intervalo libre de enfermedad y supervivencia global. No obstante, el papel como factor pronóstico adverso independiente en nuestro medio sigue siendo controvertido.

Take-Home messages: Ideas a retener.

- La presencia de Invasión Linfo Vascular (ILV) en cáncer de mama es un importante factor predictivo de afectación axilar y factor pronóstico adverso asociado a mayor tasa de recidiva local y peor supervivencia.
- Es primordial la correcta identificación de ILV en los informes anatomopatológicos.
- Conocer la biología tumoral y los mecanismos de la linfangiogénesis puede ayudar a entender la evolución de la enfermedad y a desarrollar y perfeccionar herramientas terapéuticas antiangiogénicas específicas.
- La presencia de Invasión Peri Neural (IPN) en cáncer de mama es infrecuente y su papel como factor pronóstico independiente es poco claro.

Bibliografía:

1. Pinder SE, Ellis IO, Galea M, et al. Pathological prognostic factors in breast cancer. III. Vascular invasion: relationship with recurrence and survival in a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1994; 24(1):41-7.
2. Lee AH, Pinder SE, Macmillan RD, et al. Prognostic value of lymphovascular invasion in women with lymph node negative invasive breast carcinoma. *Eur J Cancer* 2006;42(3):357-62.
3. Mohammed RA, Ellis IO, Lee AH, et al. Vascular invasion in breast cancer; an overview of recent prognostic developments and molecular pathophysiological mechanisms. *Histopathology* 2009;55(1):1-9.
4. Rakha EA, Martin S, Lee AH, et al. The prognostic significance of lymphovascular invasion in invasive breast carcinoma. *Cancer* 2012; 118(15):3670-80.
5. Lester SC, Bose S, Chen YY, et al. En: Protocol for the examination of specimens from patients with invasive carcinoma of the breast v. 3.3.0.0. College of American Pathologists (CAP) [actualizado enero 2016, acceso marzo 2016]. Disponible en: <http://www.cap.org>
6. Rcpathol.org, Pathology reporting of breast disease in surgical excision specimens incorporating the dataset for histological reporting of breast cancer. Guidelines Working Group of the UK National Coordinating Committee for Breast Pathology [actualizado junio 2016, acceso julio 2016]. Disponible en: <https://www.rcpath.org>
7. Rosen PP. Tumor emboli in intramammary lymphatics in breast carcinoma: pathologic criteria for diagnosis and clinical significance. *Pathol Annu.* 1983;18: 215-32.
8. Braun M, Flucke U, Debal M, et al. Detection of lymphovascular invasion in early breast cancer by D2-40 (podoplanin): a clinically useful predictor for axillary lymph node metastases. *Breast Cancer Res Treat.* 2008;112(3):503-11.
9. Gonzalez MA, Pinder SE. Invasive carcinoma: other histologic prognostic factors - size, vascular invasion and prognostic index. In: O'Malley FP, Pinder SE, eds. *Breast Pathology*. Philadelphia, PA: Elsevier; 2006:235-40.
10. Colleoni M, Rotmensz N, Maisonneuve P, et al. Prognostic role of the extent of peritumoral vascular invasion in operable breast cancer. *Ann Oncol.* 2007;18(10):1632-40.
11. Mohammed RA, Martin SG, Mahmood AM, et al. Objective assessment of lymphatic and blood vessel invasion in lymph node-negative breast carcinoma: findings from a large case series with long-term follow-up. *J Pathol.* 2011;223(3): 358-65.
12. Lauria R, Perrone F, Carlomagno C, et al. The prognostic value of lymphatic and blood vessel invasion in operable breast cancer. *Cancer.* 1995;76(10):1772-8.
13. Desmedt C, Haibe-Kains B, Wirapati P, et al. Biological processes associated with breast cancer clinical outcome depend on the molecular subtypes. *Clin Cancer Res.* 2008;14(16):5158-65.
14. Schoppmann SF, Bayer G, Aumayr K, et al. Prognostic value of lymphangiogenesis and lymphovascular invasion in invasive breast cancer. *Ann Surg.* 2004;240(2):306-12.
15. Sahoo PK, Jana D, Mandal PK, et al. Effect of lymphangiogenesis and lymphovascular invasion on the survival pattern of breast cancer patients. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(15):6287-93.
16. Alitalo K, Carmeliet P. Molecular mechanisms of lymphangiogenesis in health and disease. *Cancer Cell* 2002;1(3):219-27.
17. Karak SG, Quatrano N, Buckley J, et al. Prevalence and significance of perineural invasion in invasive breast carcinoma. *Conn Med.* 2010;74(1):17-21.

► Capítulo 12

Receptores hormonales.

Miriam Arumí de Dios, Santiago Escrivá de Romaní Muñoz, Meritxell Bellet Ezquerro.

1. Introducción.

El 75% de los cánceres de mama (CM) expresan receptores de estrógeno (RE) y un 70% de éstos co-expresan receptores de progesterona (RP). Un pequeño grupo de tumores (<5%) no expresan RE (RE-) y sí RP (RP+), aunque en este caso se considera que la negatividad de RE se debe a problemas técnicos¹. El RE se ha considerado desde hace décadas una variable pronóstica fundamental en CM, así como un factor predictivo clave para la respuesta a tratamientos hormonales. En este capítulo se describirá la estructura y mecanismo de acción del RE y, en menor medida, del RP, y se analizará el valor pronóstico y predictivo de la expresión de éstos, considerándolos tanto como variables cualitativas (presencia o ausencia de expresión del receptor) como variables cuantitativas. Se comentarán asimismo las técnicas empleadas para la determinación de RE y RP, desde

los métodos bioquímicos clásicos, pasando por la inmunohistoquímica utilizada habitualmente en la práctica asistencial, hasta la determinación dentro de plataformas génicas comercialmente disponibles. Finalmente, por la implicación terapéutica que puedan tener en un futuro no muy lejano, se hará referencia a la presencia de mutaciones del gen del RE, *ESR1*, en enfermedad metastásica.

2. Estructura y mecanismo de acción del RE.

El RE es una proteína que pertenece a la superfamilia de receptores nucleares, que incluye los receptores de la hormona tiroidea, del ácido retinoico y de la vitamina D². RE es, básicamente, un factor de transcripción que se une al ADN, pero tiene también funciones adicionales independientes de la unión a éste³.

Las dos isoformas más comúnmente expresadas del RE, α y β , están codificadas por sendos genes, *ESR1* y *ESR2*. *ESR1* está localizado en el cromosoma 6q (25.1), mientras que *ESR2* se localiza en 14q (23-24.1)⁴.

Las proteínas codificadas por dichos genes están constituidas por 5 dominios (A, B, C, D y E) y presentan una alta homología (Fig. 12.1)^{5,6}.

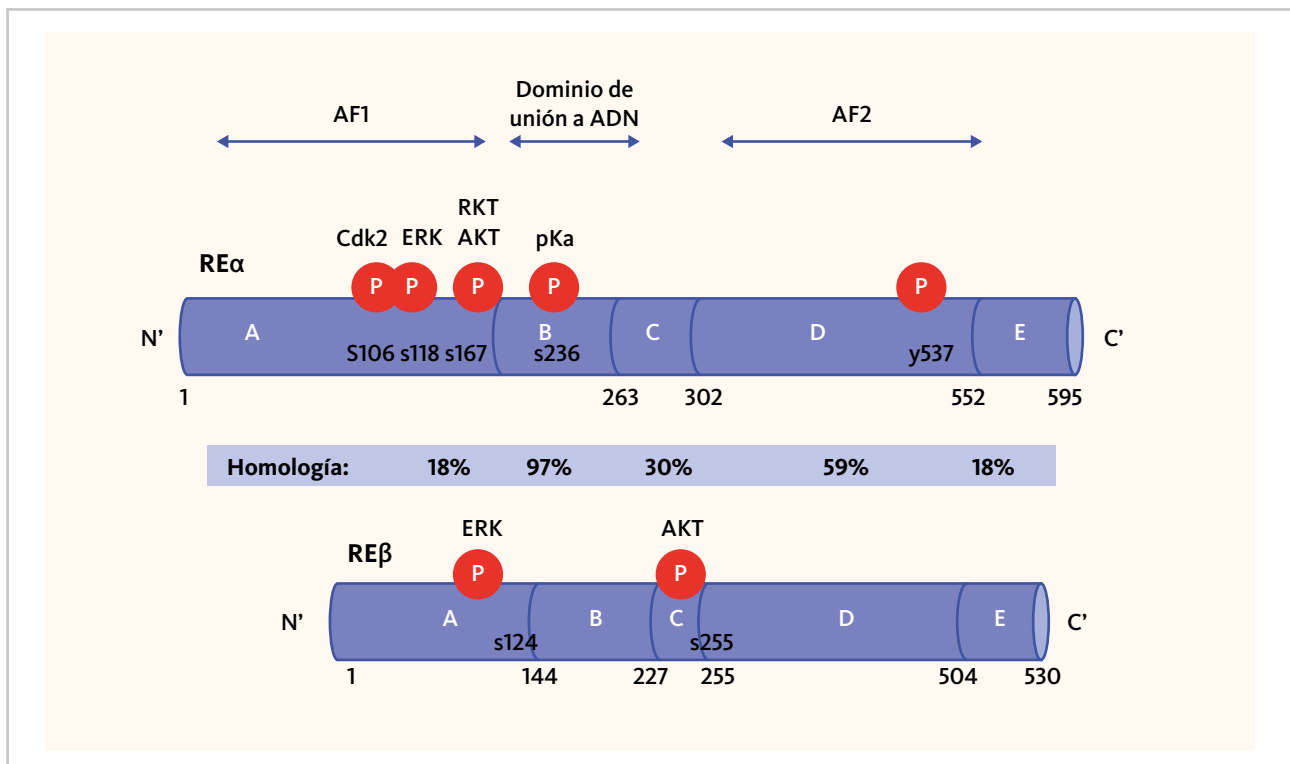


Figura 12.1. Estructura proteica de RE α y RE β : Los números determinan la secuencia de aminoácidos. En los círculos rojos se indican los lugares de activación del dominio (por fosforilación) y de la/s molécula/s responsable/s de dicha fosforilación.

El dominio N-terminal A/B es capaz de transactivar la transcripción génica en ausencia de ligando, aunque esta activación es leve y más selectiva comparada con la activación asociada al dominio E. También se conoce como AF1 (del inglés *Activating Factor 1*). El dominio C, también conocido como dominio de unión al ADN, se une a zonas concretas de éste conocidas como elementos de respuesta a estrógenos (ERE). El dominio D es una región bisagra, flexible, que conecta los dominios C y E, y que, se cree, influye en el tráfico y distribución subcelular de RE. Finalmente, el dominio E contiene la cavidad que se une al ligando, así como a proteínas coactivadoras y co-represoras. Es el dominio que activa la transcripción génica en presencia del estrógeno y también es conocido como AF2 (del inglés *Activating Factor 2*). En el extremo C terminal existe además el dominio F, que es variable en longitud, incluye la hélice 12 (H12) y podría explicar en parte las diferencias de respuesta de RE entre estradiol y SERMs (del inglés *Selective Estrogen Receptor Modulators*)⁷.

RE α y RE β se unen a su ligando natural, E2, con igual afinidad, pero, en cambio, interactúan de forma diversa con otros estrógenos naturales o sintéticos. Así, E1 y raloxifeno se unen preferentemente al RE α , mientras que E3 y genosteína se unen preferencialmente al RE β .

En respuesta a la señalización estrogénica, RE α normalmente promueve la proliferación del epitelio normal y neoplásico, por lo que se le reconoce un papel fundamental en el desarrollo del CM, mientras que RE β tiene en general un efecto antiproliferativo y pro-apoptótico.

El RE, activado por su ligando, forma dímeros, que pueden ser homodímeros RE α ($\alpha\alpha$) o RE β ($\beta\beta$) o heterodímeros ($\alpha\beta$). En principio se considera que RE es un receptor citoplasmático en su estado inactivado, pero estudios de visualización lo localizan prácticamente siempre en el núcleo celular.

Hoy en día se considera que el estrógeno actúa a nivel celular a través de tres mecanismos, vía genómica, no genómica y post-transcripcional. **Fig. 12.2**

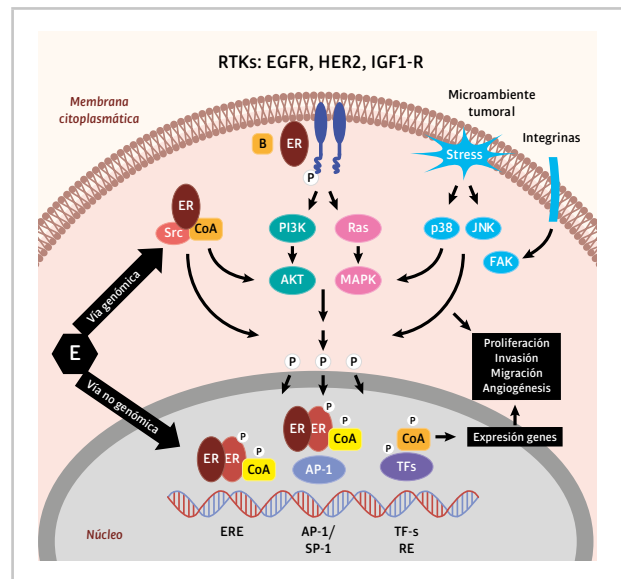


Figura 12.2. Mecanismo de acción del RE en CM.

► **Vía genómica, nuclear o clásica.**

Según esta vía, el estrógeno difunde libremente a través de la membrana fosfolipídica citoplasmática. En el citoplasma se une al RE, provocando que éste se disocie de la *Heat Shock Protein 90* (HSP-90), y se produzca la translocalización del complejo estrógeno-RE al núcleo, donde forma homo o heterodímeros. Éstos se unen a secuencias específicas del ADN, los ERE, y reclutan una serie de proteínas co-represoras y co-activadoras. Las proteínas co-activadoras tienen actividad histona-acetiltransferasa, y gracias a ella, promueven la apertura de la cromatina, facilitando la transcripción génica. En cambio las proteínas co-represoras son básicamente deacetilasas que actúan sobre las histonas promoviendo la compactación de la cromatina⁸. Entre las proteínas co-represoras y co-activadoras destacan PAX2 (del inglés *Paired box gene 2*) y AIB1 (del inglés *Amplified In Breast 1*) respectivamente, las cuales tienen un papel fundamental en la eficacia de tamoxifeno⁹.

El complejo estrógeno-RE puede interactuar directamente con el ADN a través de los ERE, o indirectamente a través de factores de transcripción, como son AP1 (del inglés *Activation Factor 1*), o Sp1 (*Specificity Protein 1*)⁹. Adicionalmente la presencia de E2 aumenta la expresión de los factores de transcripción relacionados con la proliferación fos, myc y jun. Por último, otras regiones

del genoma diferentes a los EREs, como son la secuencia TGF- α (del inglés *Transforming Growth Factor α*) estrógeno-respuesta, presentan respuestas a estradiol, pero con menor afinidad⁹. La consecuencia final de esta transcripción génica es la activación de procesos de invasión, migración, proliferación y angiogénesis.

De la interacción ligando-RE, concentración relativa de isoformas α y β y de proteínas co-activadoras y co-represoras en cada tejido, y del tipo de ligando, el balance entre co-activación y co-represión será distinto, con lo que predominará una actividad agonista o bien antagonista¹⁰. Ello explica el mecanismo de acción de los SERMs. Como consecuencia, el mismo ligando puede actuar como agonista en un tejido (en el que predominan co-activadores) y antagonista en otro (en el que predominan co-represores). Así el tamoxifeno, el *SERM* más antiguo y utilizado, actúa como antagonista en mama y células de CM, agonista sobre el hueso y tiene una actividad agonista parcial en endometrio.

► Vía no genómica.

Algunos RE se encuentran asociados a la membrana celular y pueden ser, por tanto, rápidamente activados por la exposición a los estrógenos que viajan por el torrente circulatorio. Adicionalmente, algunos RE se localizan en la parte interna de la membrana celular porque forman complejos con otras moléculas, como son la caveolina-1, proteínas G, receptores tirosín-kinasa (RTK) como EGFR (del inglés *Epidermal Growth Factor Receptor*) e IGF-1 (del inglés *Insulin Growth Factor 1*), así como con proteínas con actividad kinasa que no son receptores de membrana, como Src. De la interacción RE-RTKs se deriva el envío de señales de proliferación al núcleo mediante las vías de mitogen-activated protein kinase / extracellular signal-regulated kinase (MAPK/REK) y de fosfoinosítide 3-kinase (PI3K/AKT).

► Post-transcripcional.

Los estrógenos pueden inducir modificaciones post-transcripcionales y post-translacionales de su propio receptor. En este sentido se sabe que el estradiol, mediante la regulación transcripcional del factor estabilizante del ARNm, puede aumentar los niveles de ARNm del mismo RE, al dificultar su degradación. De esta manera asegura la estabilidad de RE en determinados tejidos¹¹.

3. Estructura y mecanismo de acción del RP.

Los RP también forman parte de la súper familia de receptores hormonales nucleares. Tras unirse a su ligando en el citoplasma, el complejo RP-progesterona se transloca al núcleo, dimeriza, y actúa sobre el ADN, de manera similar a lo descrito en referencia a la vía genómica del RE. El gen que codifica para RP, PGR, se localiza en el cromosoma 11q22-q23 y su transcripción se halla regulada por el propio RE, que, de esta manera, puede mediar en los efectos de la progesterona durante el desarrollo de la glándula mamaria normal así como en la génesis del CM¹².

Se conocen tres isoformas de receptor (RP-A, RP-B y RP-C), las cuales son codificadas por el mismo gen RPG, pero en cada caso con sitios distintos de inicio de la transcripción. Habitualmente las células co-expresan las isoformas RP-A y RP-B. RP-B funciona como activador transcripcional y RP-A actúa como inhibidor, por lo que la ratio RP-A/RP-B es crítica para determinar las funciones de la progesterona. El RP-C funciona como un inhibidor dominante del RP-B uterino durante la formación del miometrio¹³.

Los RP se expresan en un 7-10% de las células epiteliales del epitelio luminal de las unidades ductolobulares mamarias y en un 50-60% de las células del CM. Una de las causas fundamentales de la falta de expresión de RP es la hipermetilación de la región promotora del gen RPG y la acetilación de las histonas. Debido al control génico del RE sobre RPG, se ha pensado clásicamente que la expresión del RP indica que la vía funcional de RE está intacta. Sin embargo, publicaciones recientes atribuyen al RP un papel mucho más activo, y se cree que puede unirse directamente al RE, redirigiendo la actividad transcripcional de éste hacia la transcripción de genes relacionados con un mejor pronóstico¹⁴.

4. Métodos de determinación del RE y del RP.

Originalmente, la cuantificación del RE y del RP se realizaba mediante un método bioquímico que implicaba la unión competitiva de un ligando esteroideo marcado por un radioisótopo. Desde principios de los noventa estos métodos han sido ampliamente reemplazados por métodos inmunohistoquímicos que se basan en el reconocimiento de la proteína receptora mediante el uso de anticuerpos específicos. En ambos casos, la proteína receptora se mide directa o indirectamente. Una tercera técnica utilizada más recientemente es la medición del ARN mensajero de RE por análisis de transferencia de *Northern* o por reacción en cadena de la polimerasa de transcriptasa inversa (RT-PCR), formando parte de plataformas multigénicas (por ejemplo, OncotypeDx®). A continuación se resumen brevemente dichas técnicas.

► Método de unión de ligando o LBA.

Este método es el ensayo de carbón revestido con dextrano (DCC). El ligando esteroide radiomarcado primero se añade al sobrenadante de tejido homogeneizado (que representa el citosol), y se incuba para permitir que el esteroide marcado se una a todas las proteínas receptoras disponibles. Se añade DCC, que absorbe el esteroide desprendible, y posteriormente el carbón se separa por centrifugación del esteroide no unido.

Debido a que la porción unida al receptor permanece en el sobrenadante y la fracción libre se encuentra en el precipitado de carbón, las fracciones unidas y no unidas pueden entonces cuantificarse para un intervalo de concentraciones de esteroide radiomarcado. De esta manera se obtiene la concentración total de proteína receptora en el citosol, que se expresa habitualmente como femtomoles de proteína receptora por mg de proteína citosólica total (fmol / mg).

► Inmunohistoquímica (IHQ).

En la década de los ochenta, la disponibilidad de anticuerpos monoclonales tuvo un importante impacto en las metodologías para la cuantificación de receptores hormonales (RH). Inicialmente, la cuantificación fue por inmunoensayo enzimático (EIA), que aún requería la preparación de citosoles a partir de homogeneizados de tejido fresco, pero que ya resultó más preciso y mucho menos laborioso que el método DCC.

Puesto que gran parte de los datos que relacionaron la presencia de cantidades significativas de RE con la respuesta a la terapia endocrina se obtuvieron utilizando el LBA, y los cut-offs establecidos para sensibilidad hormonal fueron desarrollados en base a éste, el método IHQ precisó para su validación de comparaciones retrospectivas con LBA. En base a dichas comparaciones se concluyó que la IHQ de RE puede ser más predictiva que LBA en la identificación de las pacientes que obtendrán beneficio del tratamiento hormonal¹⁵.

La IHQ se basa en la unión de antígenos (proteínas) por parte de anticuerpos específicos, unión que será después reconocida mediante un método histoquímico. Se puede realizar en tejido fijado en formol, incluido en parafina, o en especímenes congelados seccionados. Inicialmente, se cortan secciones de 4 a 5 micrómetros y se montan sobre portaobjetos de vidrio revestidos con proteína. Las secciones se calientan para descubrir epítomos proteicos ocultos y se exponen a un anticuerpo anti-RE y / o anti-RP primario. Posteriormente se añade un anticuerpo secundario que reconoce el primero, el cual está unido a una enzima. Ésta convierte sustratos como la diaminobenzidina en moléculas de color tras la exposición a un revelador. Las secciones de tejido se contracoloran y de esta manera se puede cuantificar la proteína presente de los RE y RP, de acuerdo con la presencia de tinción nuclear, que puede ser heterogénea en el epitelio maligno. La implementación de la IHQ permitió el estudio de RH en secciones histológicas incluidas en parafina, incluso en muestras almacenadas, abrió el camino al estudio de tumores de pequeño tamaño, y, al basarse en la morfología, evitó la valoración de zonas de mama normal y tumor no infiltrante, centrando el estudio de los marcadores sólo en el carcinoma infiltrante.

Puntuación según % de células teñidas	Proporción de células teñidas	Puntuación de intensidad	Intensidad media de las células teñidas
0	Ninguna	0	ninguna
1	<1/100	1	leve
2	1/100 a 1/10	2	intermedia
3	1/10 a 1/3	3	fuerte
4	1/3 a 2/3	-	-

Tabla 12.1: Allred Score para RE y RP. Allred Score: Puntuación según porcentaje de células teñidas positivas y puntuación sobre intensidad de la tinción.

A diferencia del LBA, la IHQ mide la proteína del receptor total, no sólo la fracción no unida y por tanto no se altera ante la presencia de esteroides exógenos o tamoxifeno. Y, como ya se ha mencionado, es más predictiva que la LBA en la identificación de aquellas pacientes que se beneficiarían más del tratamiento endocrino. Por todas estas razones, la IHQ se convirtió en el principal método en la cuantificación de RE/RP en la práctica clínica.

Se considera la positividad de RE y PR $\geq 1\%$ de los núcleos de las células del carcinoma con patrón infiltrante con controles externos positivos y negativos correctos (Guías ASCO/CAP 2010)¹⁶. En el informe, en caso de recuento manual, debe expresarse el porcentaje de células positivas de RE y RP y, en el caso de realizarse el recuento mediante análisis de imagen, el informe del mismo. También debe figurar la estimación de la intensidad de la reacción. Existen 2 scores ampliamente utilizados para estimar semicuantitativamente el RE y el RP, el Allred Score¹⁵ y el H-score o Histoscore¹⁷. Ambos tienen en cuenta el porcentaje de células teñidas y la intensidad. El Allred Score da una puntuación de 0 a 8, considerándose positivo a partir de una puntuación de 3 (>1 % de células teñidas con una intensidad leve) (Tabla 12.1), mientras que el H-score da un rango de 0 a 300, y se calcula a partir de la fórmula:

$$\text{H score} = [1 \times (\% \text{ células } 1+) + 2 \times (\% \text{ células } 2+) + 3 \times (\% \text{ células } 3+)]$$

donde 1+, 2+ y 3+, representa tinción leve, intermedia o fuerte, respectivamente.

La Fig. 12.3 muestra diferentes ejemplos de Histoscore aplicado a RE y RP. La determinación de RE y RP por RT-PCR se comentará más adelante.

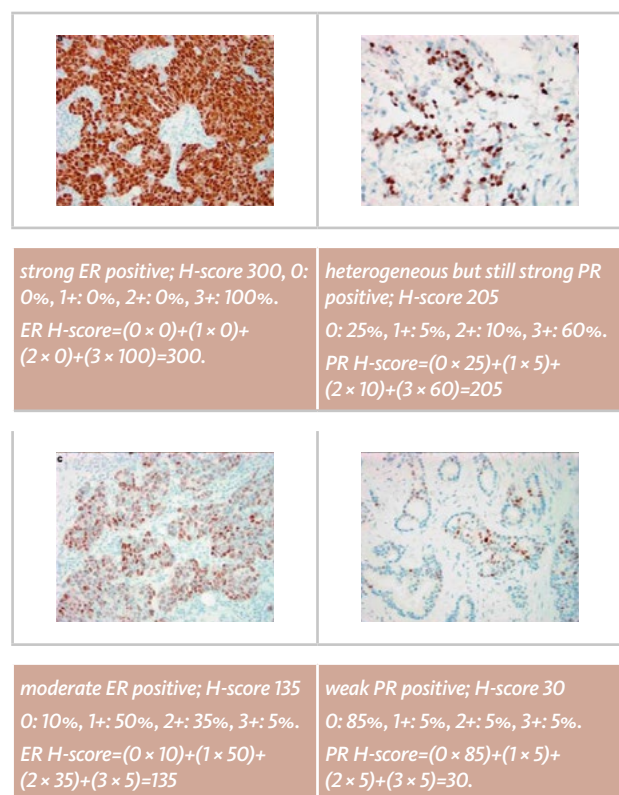


Figura 12.3. Medición semicuantitativa de RE y RP: Ejemplos de H-score.

En general la mayoría de recaídas metastásicas son concordantes en cuanto a positividad o negatividad hormonal con respecto al tumor primario, sobre todo en cuanto al RE. En una serie que comparó 223 metástasis procedentes de múltiples localizaciones con sus respectivos tumores primarios, se describió una tasa de cambio de RE y RP del 15.1% y 32.6%, respectivamente (*cut-off* para positividad: 1%). En 12.4% de casos se produjo la conversión de RE+ o RP+ a RE-/RP- (doble negatividad) y en 8.2% se observó el fenómeno inverso (conversión de RE-/RP- a RE+ y/o RP+¹⁸).

5. Valor pronóstico de la expresión de RE y/o RP como variables cualitativas.

La expresión de RH (entendiendo ésta como variable cualitativa, presencia o ausencia) constituye per se un factor pronóstico independiente, pero se asocia a otras variables clínico-patológicas con significado pronóstico también favorable, como la edad avanzada, el grado histológico 1 o 2, la baja proliferación o la tendencia a la diploidía. La doble positividad (RE+ y RP+) además, es más frecuente en carcinomas invasivos lobulillares (excepto los carcinomas lobulillares pleomórficos) que en carcinomas ductales¹. Los tumores RH+ tienen, asimismo, menor número de mutaciones, pérdidas o amplificaciones de genes relacionados con el CM, como p53, HER2 o HER1, alteraciones todas ellas asociadas a una peor supervivencia. Globalmente puede afirmarse que la expresión de RH en CM es una característica clínica asociada tanto a un buen pronóstico como a un patrón de recurrencia definido por un menor pico de recaídas precoces (respecto a los tumores RH-) y una mayor probabilidad de recurrencias tardías, tal y como se muestra gráficamente en la Fig. 12.4¹⁹.

Así, por ejemplo, el *International Breast Cancer Study Group* investigó el patrón de recurrencia en más de 4.000 pacientes con CM operable incluidas en ensayos clínicos entre 1978 y 1985. Con una mediana de seguimiento de 24 años, los autores comunicaron que las pacientes RE+ presentaban un menor riesgo

de recurrencia anual durante los cinco años después del tratamiento inicial, comparado con aquéllas con enfermedad RE- (9,9 vs. 11,5%). Sin embargo, después de los primeros cinco años, las pacientes con tumores RE+ presentaron un riesgo anual mayor de recaída (5 a 10 años: 5,4 vs. 3,3%; 10 a 15 años: 2,9 vs. 1,3%; 15 a 20 años: 2,8 vs. 1,2%)²⁰.

En lo que se refiere al RP, se sabe que éste tiene un valor pronóstico independiente al del RE. Varias publicaciones avalan este hecho. Destacamos el estudio poblacional de Purdie y cols²¹, que incluyó 1074 mujeres con CM primario, sometidas a cirugía con intención curativa y que recibieron quimioterapia (neoadyuvante o adyuvante) y tratamiento hormonal en 29% y 80.5% de casos, respectivamente. En el análisis multivariante, la expresión de RP fue independientemente predictiva de supervivencia libre de enfermedad (HR 1,94, 95% IC 1,32-2,85) y supervivencia específica de CM (HR 2,12, IC 95% 1,34-3,38), lo cual se hizo más evidente a partir del sexto año de seguimiento. En esta misma línea, y con respecto al pronóstico asociado a la expresión de uno o ambos RH, resulta muy ilustrativa la publicación de Dunwald y cols¹, que reúne datos de 11 registros de tumores poblacionales y más de 150.000 pacientes del programa SEER (*Surveillance, Epidemiology and End Results*). Estos autores describen que, tomando como referencia las pacientes con doble positividad de RH, las pacientes con positividad

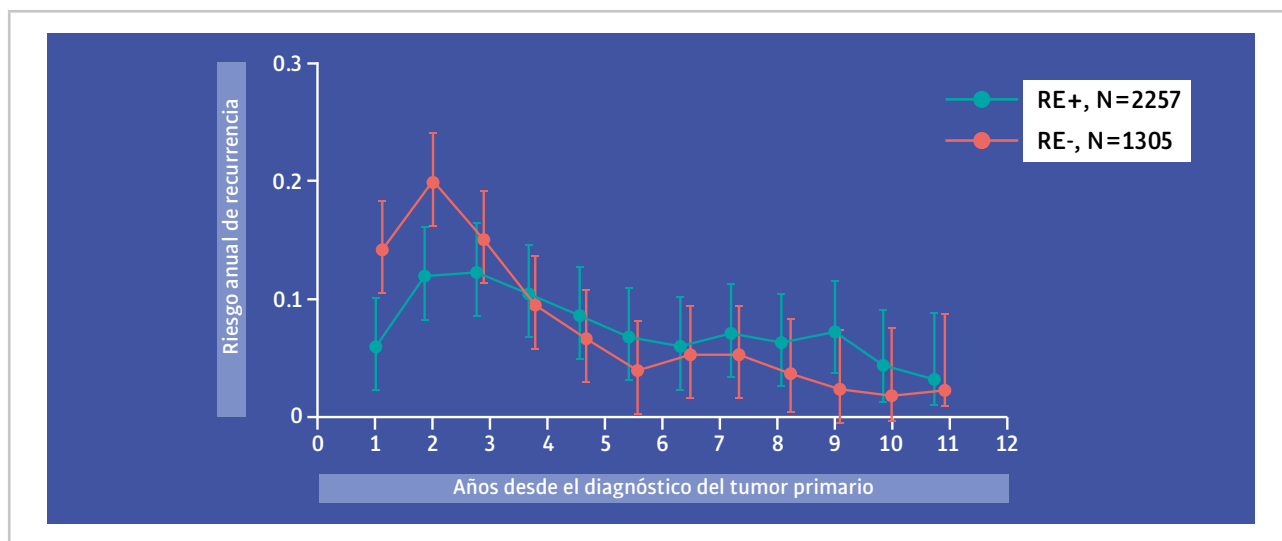


Figura 12.4. Riesgo anual de recurrencia del CM en función del estado del RE¹⁹.

de un único receptor, o con negatividad de ambos, presentan un riesgo incrementado de mortalidad que, además, es significativo para todos los grupos de edad (aumento de riesgo de 1,2 a 1,5 veces para los casos RE+/RP-, de 1,5 a 2,1 veces para pacientes portadoras de tumores RE-/RP+ y de 2,1 a 2,6 veces para casos RE-/RP-). Las diferencias pronósticas son incluso más aparentes cuando se estratifica por grado histológico.

Así, de entre el grupo de mujeres con lesiones de bajo grado, aquéllas con ambos RH- tienen de 2,6 a 3,1 veces más riesgo de muerte que las pacientes con tumores RE+/RP+.

Y lo mismo sucede para las mujeres con tumores de alto grado (riesgo de muerte 2 veces superior para aquéllas con ambos RH-, en comparación con la población con doble positividad).

Desde el punto de vista biológico, y en comparación con los casos RE+/RP+, los tumores RE+/RP- constituyen un clase molecular (luminal B) más agresiva, que se asocia a menor actividad nuclear de RE, mayor inestabilidad genómica, mayor proliferación, mayor frecuencia de mutaciones en *PIK3CA* y mayor diálogo cruzado entre RE y los factores de crecimiento de membrana²². Sin embargo, la expresión de RP también está ligada a la edad y a los niveles de estrógenos circulantes. Con altos niveles de estrógenos circulantes, RP puede expresarse de forma substancial, manteniendo una elevada señalización vía factores de crecimiento, mientras que, por el contrario, con niveles de estrógeno bajos, el RP puede ser indetectable, pero con una vía de señalización RE-estrógeno intacta²³.

En cuanto al tipo de diseminación, el estado RH+ se relaciona con unas localizaciones metastásicas características, como son hueso, tejidos blandos, pleura y pulmón. En cambio, las pacientes con tumores RH- tienen más tendencia a metastatizar en sistema nervioso central e hígado, localizaciones que se asocian a una menor supervivencia desde la recaída.

6. Valor predictivo de la expresión cualitativa de RE y RP.

En términos generales, existe un amplio consenso acerca de que la expresión cualitativa del RE es claramente predictiva de la posibilidad de respuesta al tratamiento hormonal²⁴, tanto en CM avanzado como en el contexto adyuvante. En el escenario adyuvante, el valor predictivo de RE ha sido claramente demostrado por el metanálisis de los ensayos aleatorizados del *Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group (EBCTCG)* publicado en 2011²⁵. Este meta-análisis reunió datos individuales de 21.457 pacientes, procedentes de 20 ensayos clínicos, que habían recibido 5 años de tamoxifeno adyuvante versus no tamoxifeno. Según este meta-análisis, en las pacientes con RE+, el tratamiento con tamoxifeno disminuye significativamente el riesgo anual de recurrencia y de muerte en un 39% y 38%, respectivamente. El beneficio fue independiente del estado de RP, edad, afectación ganglionar o administración de quimioterapia adyuvante.

Por el contrario, el tratamiento con tamoxifeno no tuvo ningún impacto en la recurrencia o la supervivencia en las pacientes con CM RE-. Por otro lado, y con respecto a la respuesta a la quimioterapia, la positividad de RE ha demostrado ser un factor predictivo negativo de obtención de respuesta patológica completa (pRC) a la quimioterapia neoadyuvante²⁶.

El valor predictivo del RP, en cambio, es controvertido. Se acepta que RP tiene un valor predictivo positivo claro en cuanto a respuesta a tamoxifeno en enfermedad metastásica, mientras que su valor predictivo de beneficio del tratamiento endocrino adyuvante en CM precoz ha resultado poco consistente. Inicialmente el estudio transATAC (*Arimidex, Tamoxifen or in Combination Trial*) comunicó que los tumores RE+RP- obtenían más beneficio del tratamiento con anastrozol que con tamoxifeno²⁷, pero una revisión central posterior desmintió este hallazgo²⁸. Un segundo trabajo, esta vez en el contexto del estudio BIG 1-98 también reportó un beneficio proporcional similar de letrozol vs tamoxifeno para tumores RE+RP- (positividad >10% de células teñidas) con respecto a los casos con doble positividad²⁹.

En el contexto neoadyuvante, la ausencia de RP en tumores RE+ no ha impedido la respuesta clínica a la hormonoterapia (letrozol o tamoxifeno), pero se ha asociado a una menor tasa de respuestas (63% vs 41% para letrozol; 43 vs 28% con tamoxifeno)³⁰.

7. Valor pronóstico y predictivo de la expresión cuantitativa de RE y RP.

La mayoría de datos que relacionan la expresión de RE y/o RP y el pronóstico o la sensibilidad a tratamientos endocrinos se obtuvieron utilizando métodos bioquímicos, ya descritos anteriormente. Nuevamente debemos mencionar aquí el meta-análisis de Oxford de 2011²⁴. El beneficio observado con tamoxifeno en recurrencia y mortalidad se limitaba a pacientes con positividad de RE, aunque los niveles de éstos fueran marginales (a partir de 10-19 fmol/mg, Riesgo Relativo (RR) 0.67), de manera que el beneficio proporcional de niveles más altos de RE fue solo levemente mayor (RR 0.52 para RE \geq 200 fmol/mg). Las pacientes incluidas con bajos niveles de RE (<10 fmol/mg) o negatividad del mismo, no obtuvieron ningún beneficio del tratamiento.

Más posteriormente, los datos derivan de estudios que compararon tamoxifeno con inhibidores de la aromatasa, y no se incluyeron pacientes sin tratamiento adyuvante, por lo que no se pudo estudiar de forma pura el valor pronóstico de RE. Aún así, cabe comentar el estudio TransATAC previamente mencionado, que analizó centralmente RE y que categorizó éste mediante unidades (incrementos de H-score de 30)²⁸. El estudio reportó que el RE así cuantificado se relacionaba marginalmente con el tiempo a la recurrencia tanto en el brazo de anastrozol como en el de tamoxifeno, pero en ambos grupos el estado de RE perdía significación en el análisis multivariado. En cambio la cuantificación de RP (incrementos del 10% de células teñidas) resultó ser una variable independiente de mejor pronóstico en ambos brazos de tratamiento ($p \approx 0.01$ en ambos casos). Más recientemente el estudio TEAM (The Tamoxifeno and Exemestane Adjuvant Multinational Trial) incluyó un subestudio prospectivo con más de 3000 pacientes para estudiar el valor predictivo de los RH cuantificados mediante IHQ y técnicas de interpretación de imagen automatizadas^{31,32}, en pacientes aleatorizadas a tamoxifeno durante 2.5 años seguido de exemestano por 2.5 años, vs exemestano durante 5 años. Se observó que a medida que disminuía la expresión de RE o RP aumentaba el riesgo de recidiva, sugiriendo para ambos un valor pronóstico.

Tanto para histologías ductal como lobulillar, y a diferencia de lo que pudiera pensarse a priori, los casos con alta expresión de RE por Allred Score se beneficiaron más de la monoterapia con exemestano, mientras que las pacientes con baja expresión se beneficiaron más del tratamiento secuencial. En cuanto al estado de RP, éste no predijo un beneficio adicional de exemestano vs tamoxifeno-exemestano secuencial. Esta falta de poder predictivo de RP con respecto al tratamiento hormonal utilizado es consistente con los hallazgos del análisis central del estudio TransATAC²⁸.

En el contexto neoadyuvante los estudios PO24^{30,33} e IMPACT³⁴, que compararon tamoxifeno con un inhibidor de la aromatasa, ya fuera anastrozol o letrozol, demostraron una mayor proporción de respuestas clínicas para valores intermedios-altos de RE según H-score o Allred Score, respectivamente. De forma interesante, en el estudio PO24 se observó que tumores con baja positividad de RE (Allred Score entre 3-5) no existían respuestas a tamoxifeno, pero sí a letrozol. En cuanto a RP, se observaron respuestas a hormonoterapia para todos los Allred Score de PR (0 a 8), pero curiosamente la máxima tasa de respuestas clínicas, sobre todo en lo que concierne a letrozol, se documentó para valores bajos - intermedios de RP (Allred Score 4 a 6).

Por último, y en consonancia con el apartado anterior, existen estudios retrospectivos^{35,36} que demuestran que la cuantificación de RH (positividad nuclear entre 0-100%) puede predecir con bastante precisión el beneficio de la quimioterapia neoadyuvante en términos de pRC. En el primero de estos trabajos³⁵, que incluyó 103 tratadas con QT adyuvante basada en epirrubicina y taxanos, se observó en el análisis multivariado que las pacientes con RE-tenían 18,6 veces mayor probabilidad de conseguir una pRC que las pacientes con más del 30% de positividad para RE. También la positividad de PR predijo la ausencia de pRC, de manera que ésta no se alcanzó en ninguna de las pacientes con RP>1%. En la segunda serie³⁶ esta vez con 304 pacientes, también se vio que la positividad de RE se relacionaba inversamente tanto con la reducción tumoral como con la ausencia de pRC, y se estableció un punto de corte de positividad de RE <60% y <80% como el más adecuado para predecir reducción tumoral y pRC, respectivamente.

8. Clasificación molecular del CM: RE y RP como marcadores subrogados de subtipos intrínsecos.

A los modelos predictivos clásicos (LBS, IHQ) se han añadido en la última década nuevos instrumentos predictivos de caracterización génica. En este sentido, en el año 2000, Charles M. Perou y cols. publicó la primera clasificación molecular de CM³⁷. En dicha publicación los tumores quedaron agrupados en cuatro *clusters* o subtipos, luminal A, luminal B, HER2 y basal. Luminal A y luminal B, expresaban RE, pero eran claramente distintos desde el punto de vista biológico (mayor proliferación en tumores luminal B), pronóstico e incluso terapéutico, como se comprobaría más adelante. El siguiente paso consistió en buscar un marcadores subrogados por IHQ que pudieran identificar dichos subtipos en la práctica clínica. Puesto que la principal diferencia biológica entre luminal A y luminal B radicaba en la mayor proliferación de este último subtipo, se decidió estudiar un punto de corte de un marcador proliferativo como Ki67 que permitiera discriminar ambas entidades. Así, un primer estudio estableció un cut-off de Ki67 del 13,25% para diferenciar ambos subtipos³⁸. Además, en el año 2012, un estudio comparó las definiciones histopatológicas subrogadas de los subtipos luminales A y B, determinadas por dos patólogos expertos, con los datos de expresión génica³⁹. El estudio mostró que un 30-52% de los tumores luminales B por expresión génica siguen identificándose como luminal A por IHQ. Además, estos tumores luminales B por expresión génica e IHQ-luminal A, mostraron un peor pronóstico que los tumores luminales A por expresión génica e IHQ-luminal A. Estos datos indicaron, por tanto, que la actual definición del subtipo luminal A basada en IHQ debe mejorarse. Para conseguir este objetivo, se investigó la expresión global de genes de los subtipos luminal A y B, hallándose aproximadamente 1500 genes con expresión diferente.

Entre los genes más sobreexpresados en tumores luminal A vs luminal B se encontró el gen de RP, pero no el de RE, lo cual supuso un hallazgo interesante, ya que la utilidad de la cuantificación de RP no estaba clara en la práctica clínica habitual. Además los autores validaron, dentro de la definición de luminal A por IHQ (RH+/HER2-/Ki67<14%), un punto de corte de células positivas para el RP del 20% o superior. De esta forma se propuso una definición de los tumores IHQ-luminal A basada en 4 parámetros IHQ: RE+/HER2-/Ki67<14%/RP>20%. Esta definición se incorporó en el consenso de tratamiento adyuvante sistémico de St. Gallen del año 2013⁴⁰. Finalmente, en aras de una mayor simplicidad y reproducibilidad, el mismo consenso del año 2015 aceptó un dintel de Ki67 del 20% para distinguir entre ambos subtipos luminales⁴¹. [Tabla 12.II](#)

▸ SUBT SUBTIPO IHQ/FISH	▸ SUBTIPO INTRÍNSECO TIPO INTRÍNSECO
RE+/HER2-/Ki67<14%/RP>20%	Luminal A
RE+/HER2-/Ki67<14%/RP<20%	Luminal B
RH+/HER2-/Ki67>14%	Luminal B
RH+/HER2+	Luminal B
RH-/HER2+	HER2
RH-/HER2-	Basal-like

Tabla 12.II. Definiciones histopatológicas de los subtipos intrínsecos del cáncer de mama⁴⁰ (Cut-off de Ki67 actualmente aceptado⁴¹: 20%).

9. Determinación de RE y RP en plataformas genómicas pronósticas.

En un intento de favorecer la aplicación clínica real de los perfiles moleculares del CM, se han desarrollado en la última década plataformas de expresión génica cada vez más automatizadas y disponibles en tejido parafinado.

Dichas plataformas se han diseñado, o bien para establecer el pronóstico a 5 o 10 años de forma biológicamente robusta (OncotypeDx®, MammaPrint®, EndoPredict®, PAM50-ROR/Prosigna), o bien directamente para determinar el subtipo tumoral (PAM50/ROR/Prosigna, BluePrint), y/o para predecir el beneficio de la quimioterapia adyuvante (OncotypeDx®) en pacientes RH+ HER2-. En general puede decirse que, aunque los genes estudiados son distintos, la información proporcionada por las diferentes plataformas es bastante concordante e independiente de la proporcionada por los factores pronósticos histopatológicos clásicos, incluyendo RE y RP. La revisión detallada de la metodología utilizada, así como de los resultados de los estudios retrospectivos y prospectivos con cada una de estas plataformas se realizará en otro capítulo, mientras que en éste se describirá únicamente aquello que compara directamente la determinación de RE y RP por IHQ con la obtenida por el test multigénico. De las plataformas mencionadas, sólo OncotypeDx® y PAM50 incluyen el RE y RP en su panel génico.

En la plataforma OncotypeDx®, los resultados de la expresión de RT-qPCR para RE y RP se dicotomizan en valores positivos y negativos, en comparación con la IHQ. En cuanto al valor pronóstico y predictivo de éste método de cuantificación en CM precoz, resultan particularmente interesantes los datos obtenidos a partir del estudio NSABP-B14⁴².

En este estudio, pacientes RE+ con ganglios axilares negativos fueron randomizadas a recibir o no tamoxifeno durante 5 años. En dicho estudio se comprobó que la cuantificación de RE por RT-PCR no era pronóstica (recurrencia libre enfermedad a distancia en brazo control similar, $p=0.30$) pero sí altamente predictiva del beneficio de tamoxifeno (test de interacción cuantificación RE-beneficio tamoxifeno: $p=0,0007$), mientras que nuevamente la cuantificación de RP no resultó predictiva (test interacción cuantificación RP-beneficio tamoxifeno $p=0,64$).

Un segundo trabajo⁴³ ha valorado la utilidad de la evaluación cuantitativa de RT-qPCR de RE y PR por OncotypeDx® como alternativa a la IHQ, comparando IHQ local y central y medición central cuantitativa RT-qPCR de RE y PR en muestras de CM de 776 pacientes. La concordancia fue alta, tal y como se muestra en la **Tabla 12.III**.

	RE IHQ local	RE IHQ central	RP IHQ local	RP IHQ central
▸ RE IHQ central	90%			
▸ RE PCR	91%	93%		
▸ RP IHQ central			86%	
▸ RP PCR			88%	90%

Tabla 12.III. Concordancia entre IHQ local, central y PCR para expresión del RE y RP.

A destacar que los casos RE- que resultaron positivos para RT-PCR fueron más comunes que los casos IHQ RE+ que resultaron negativos por RT-PCR. La expresión de RE central tendió a asociarse con la recurrencia, sin llegar a la significación estadística ($p=0.091$), mientras que la expresión de RE por RT-PCR sí demostró una relación estadísticamente significativa ($p=0.014$). Sin embargo, el Recurrence Score (RS), que tiene en cuenta genes y vías adicionales, fue más relevante como predictor de recurrencia ($p=0,0001$). Con este estudio, se concluye que la RT-PCR es equivalente a la IHQ en la identificación de los casos RH positivo (considerando RE y PR combinados), pero superior en cuanto a la capacidad predictiva de RE, y también mejor en cuanto a precisión técnica, ya que no adolece de la variabilidad asociada a la técnica de IHQ⁴⁴.

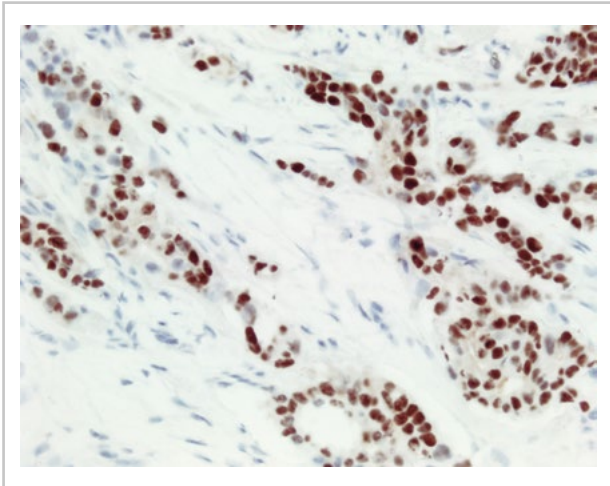
Por otro lado, PAM50 incluye *ESR1* y *PGR* en su panel génico, pero no se ha comparado directamente el valor de su expresión con la determinación por IHQ. Lo que sí se ha visto con esta plataforma, y en base a un estudio con más de 700 muestras, es que un 10% de tumores clínicamente RE+ pertenecen realmente a subtipos no luminales⁴⁵.

10. Mutaciones del RE.

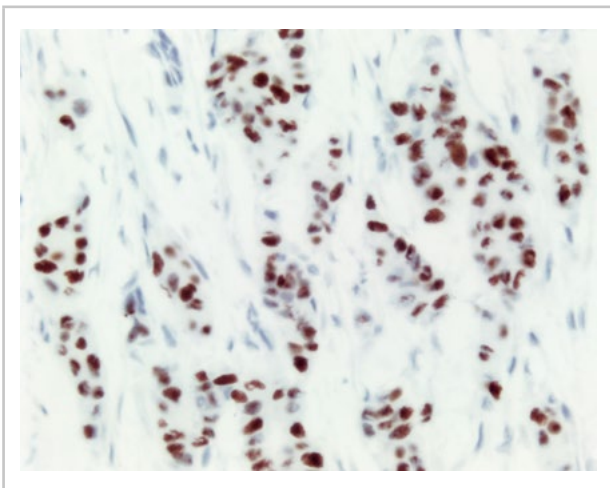
Para finalizar, debe mencionarse que en los últimos 3 años se han reportado mutaciones de RE que pueden afectar a la respuesta a los tratamientos endocrinos en el ámbito metastásico. La mayoría de mutaciones de RE reportadas modifican el sitio de unión al ligando del receptor de manera que éste queda activado de forma constitutiva y, por tanto, independiente del ligando. Según esto, y también en base a datos preclínicos, los tumores con mutaciones de *ESR1* serían resistentes a la depleción estrogénica inducida por inhibidores de la aromatasa, y en menor medida también a tamoxifeno, y en cambio serían algo más sensibles a dosis altas de fulvestrant u otros fármacos orales degradadores de RE (SREDs, o Selective Estrogen Receptor Degradars) aún en desarrollo⁴⁶. Estas mutaciones no se suelen detectar en los tumores primarios (<2%) y suelen ser más frecuentes a medida que aumenta el tiempo de exposición a inhibidores de la aromatasa en el contexto metastásico y el número de líneas hormonales recibidas^{47,48}. Existe correlación entre la detección de mutaciones de *ESR1* en tejido tumoral metastásico y en ADN tumoral libre circulante (cfDNA) detectado por PCR digital, lo cual puede permitir su monitorización en sangre periférica. Así, varios estudios efectuados en segunda-tercera línea hormonal, describen una prevalencia de mutaciones de *ESR1* en cfDNA que oscila entre el 25 y 37%⁴⁹⁻⁵³. De entre ellos destaca el estudio SOFEA⁵², que proporciona la primera evidencia clínica de mayor sensibilidad al tratamiento con fulvestrant (antiestrogéno puro, degradador de RE) que al exemestano (inhibidor de la aromatasa) en presencia de mutación de *ESR1*. Se sabe asimismo que dichas mutaciones no son predictoras de eficacia de los fármacos inhibidores de las quinasas dependientes de ciclinas⁵². También se ha visto que determinadas mutaciones de *ESR1*, como Y537S, no se benefician del beneficio adicional de everolimus a exemestano, mientras que otras mutaciones sí se benefician (D538G). En cuanto al valor pronóstico de *ESR1* mutado, varias publicaciones sugieren que la presencia de mutación se asocia a una peor supervivencia libre de progresión e incluso, a una peor supervivencia global^{49,53,54}.

☞ Take-Home messages: Ideas a retener.

- El 75% de los cánceres de mama (CM) expresan receptores de estrógeno (RE) y un 70% de éstos co-expresan receptores de progesterona (RP). Un pequeño grupo de tumores (<5%) no expresan RE (RE-) y sí RP (RP+), aunque en este caso se considera que la negatividad de RE se debe a problemas técnicos.
- El RE se ha considerado desde hace décadas una variable pronóstica fundamental en CM, así como un factor predictivo clave para la respuesta a tratamientos hormonales.
- La IHQ se ha convertido en el principal método en la cuantificación de RE/RP en la práctica clínica. Se considera la positividad de RE y PR $\geq 1\%$ de los núcleos de las células del carcinoma con patrón infiltrante con controles externos positivos y negativos correctos (Guías ASCO/CAP 2010).
- Globalmente puede afirmarse que la expresión de RH en CM es una característica clínica asociada tanto a un buen pronóstico como a un patrón de recurrencia, definido por una menor tasa de recaídas precoces (respecto a los tumores RH-) y una mayor probabilidad de recurrencias tardías.
- En cuanto al tipo de diseminación, el estado RH+ se relaciona con unas localizaciones metastásicas características, como son hueso, tejidos blandos, pleura y pulmón. En cambio, las pacientes con tumores RH- tienen más tendencia a metastatizar en sistema nervioso central e hígado, localizaciones que se asocian a una menor supervivencia desde la recaída.
- Se propuso una definición de los tumores IHQ-luminal A basada en 4 parámetros IHQ: RE+/HER2-/Ki67<14%/RP>20%. Esta definición se incorporó en el consenso de tratamiento adyuvante sistémico de St. Gallen del año 2013. Finalmente, en aras de una mayor simplicidad y reproducibilidad, el mismo consenso del año 2015 aceptó un dintel de Ki67 del 20% para distinguir entre ambos subtipos luminales.



RE por técnica de IHQ.



RP por técnica de IHQ.

☐ Bibliografía:

1. Dunnwald LK, Rossing MA, Li CI. Hormone receptor status, tumor characteristics, and prognosis: a prospective cohort of breast cancer patients. *Breast Cancer Res* 2007;9(1):R6.
2. Beato M, Klug J. Steroid hormone receptors: an update. *Hum Reprod Update* 2000;6(3):225-36.
3. Levin ER. Integration of the extranuclear and nuclear actions of estrogen. *Mol Endocrinol* 2005;19(8):1951-9.
4. Zhu BT, Han GZ, Shim JY, et al. Quantitative structure-activity relationship of various endogenous estrogen metabolites for human estrogen receptor alpha and beta subtypes: Insights into the structural determinants favoring a differential subtype binding. *Endocrinology* 2006;147(9):4132-50.
5. Leung YK, Mak P, Hassan S, et al. Estrogen receptor (RE)-beta isoforms: a key to understanding RE-beta signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103(35):13162-7.
6. Stirone C, Duckles SP, Krause DN. Multiple forms of estrogen receptor-alpha in cerebral blood vessels: regulation by estrogen. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;284(1):E184-92.
7. Brzozowski AM, Pike AC, Dauter Z, et al. Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor. *Nature* 1997;389(6652):753-8.
8. Pedram A, Razandi M, Aitkenhead M, et al. Integration of the non-genomic and genomic actions of estrogen. Membrane-initiated signaling by steroid to transcription and cell biology. *J Biol Chem* 2002;277(52):50768-75.
9. Hurtado A, Holmes KA, Geistlinger TR, et al. Regulation of erbB2 by oestrogen receptor-PAX2 determines response to tamoxifeno. *Nature* 2008;456(7222):663-6
10. El-Ashry D, Chrysogelos SA, Lippman ME, et al. Estrogen induction of TGF-alpha is mediated by an estrogen response element composed of two imperfect palindromes. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1996;59(3-4):261-9.
11. Saceda M, Lindsey RK, Salomon H, et al., Estradiol regulates estrogen receptor mRNA stability. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1998;66(3):113-20.
12. Hill KK, Roemer SC, Churchill ME, et al., Structural and Functional Analysis of the progesterone Receptor. *Mol Cell Endocrinol* 2012;348(2):418-429.
13. Kariagina A, de Aupperlee MD, Haslam SZ. Progesterone receptor isoform functions in normal breast development and breast cancer. *Cirt Rev Eukaryot Gene Expr.* 2008;8(1):11-33.
14. Mohammed H, Russell IA, Stark Rory, et al. Progesterone receptor modulates REa action in breast cancer. *Nature* 2015;523(7560):313-7.
15. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 1999;17(5):1474-81.
16. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2010;28(16):2784-95.
17. Hirsch FR, Varella-Garcia M, Bunn PA Jr, et al. Epidermal growth factor receptor in non-small-cell lung carcinomas: Correlation between gen copy number and protein expression and impact on prognosis. *J Clin Oncol* 2003;21(20):3798-807.
18. Hoefnagel LDC, van de Vijver MJ, van Slooten HJ, et al. Receptor conversion in distant breast cancer metastases. *Breast Cancer Res* 2010;12(5):R75.
19. Saphner T, Tormey DC, Gray R. Annual hazard rates of recurrence for breast cancer after primary therapy. *J Clin Oncol* 1996;14(10):2738-46.
20. Colleoni M, Sun Z, Price KN, et al. Annual hazard rates of recurrence for breast cancer during 24 years of follow-up: Results from the International Breast Cancer Study. *J Clin Oncol* 2016;34(9):927-35.
21. Purdie CA, Quinlan PM, Jordan LB, et al. Progesterone receptor expression is an independent prognostic variable in early breast cancer: a population-based study. *Br J Cancer* 2014;110(3):565-72.
22. Thakkar JP, Mehta DG. A review of an unfavorable subset of breast cancer estrogen receptor positive progesterone receptor negative. *Oncologist* 2011;16(3):276-85.

23. Huang HJ, Neven P, Drijckoningen M, et al. Association between HER2/neu and the progesterone receptor in oestrogen-dependent breast cancer is age-related. *Breast Cancer Res Treat* 2005;91(1):81-7.
24. Osborne CK, Yochmowitz MG, Knight WA, et al. The value of estrogen and progesterone receptors in the treatment of breast cancer. *Cancer* 1980;46(12 suppl):2884-8.
25. Davies C, Godwin J, Grey R, et al. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient-level meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 2011;378(9793):771-84.
26. Colleoni M, Viale G, Zahrieh D, et al. Chemotherapy is more effective in patients with breast cancer not expressing steroid hormone receptors. *Clin Cancer Res* 2004;10(19):6622-8.
27. Dowsett M, Cuckiz W, Viale C, et al. Retrospective analyses of time to recurrence in the ATAC trial according to hormone receptor status: An hypothesis generating study. *J Clin Oncol* 2005;23(30):7512-7.
28. Dowsett M, Allred C, Knox J, et al. Relationship between quantitative estrogen and progesterone receptor expression and human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) status with recurrence in the arimidex, tamoxifen alone or in combination trial. *J Clin Oncol* 2008;26(7):1059-65.
29. Viale G, Regan MM, Maiorano E, et al. Prognostic and predictive value of centrally reviewed expression of estrogen and progesterone receptors in a randomized trial comparing letrozole and tamoxifen adjuvant therapy for postmenopausal early breast cancer: BIG 1-98. *J Clin Oncol* 2007;25(25):3846-52.
30. Eiermann W, Paepke S, Appfelstaedt J, et al. Preoperative treatment of postmenopausal breast cancer patients with letrozole: A randomized double-blind multicenter study. *Ann Oncol*. 2001;12(11):1527-32.
31. Faratian D, Kay C, Robson T, et al. Automated image analysis for high-throughput quantitative detection of ER and PR expression levels in large-scale clinical studies: the TEAM trial experience. *Histopathology*. 2009;55(5):587-93.
32. Van de Water W, Fontein DB, van Nes JG, et al. Influence of semi-quantitative oestrogen receptor expression on adjuvant endocrine therapy efficacy in ductal and lobular breast cancer – A TEAM study analysis. *Eur J Cancer* 2013;49(2):297-304.
33. Ellis MJ, Coop A, Singh B, et al. Letrozole is more effective neoadjuvant endocrine therapy than tamoxifen for erbB-1- and/or erbB-2-positive, estrogen receptor-positive primary breast cancer: evidence from a phase III randomized trial. *J Clin Oncol* 2001;19(18):3808-16.
34. Smith IE, Dowsett M, Ebbs SR, et al. Neoadjuvant treatment of postmenopausal breast cancer with anastrozole, tamoxifen, or both in combination: The immediate preoperative anastrozole, tamoxifen, or combined with tamoxifen (IMPACT) multicenter double-blind randomized trial. *J Clin Oncol* 2005;23(22):5108-16.
35. Osako T, Nishimura R, Okumura Y, et al. Predictive significance of the proportion of ER-positive or PgR positive tumor cells in response to neoadjuvant chemotherapy for perable HRE2-negative breast cancer. *Exp Ther Med* 2012;3(1):66-71.
36. Raphael J, Gandhi S, Li N, et al. The role of quantitative estrogen receptor status in predicting tumor response at surgery in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat* 2017;164(2):285-94.
37. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumors. *Nature* 2000;406(6797):747-52.
38. Cheang MC, Chia SK, Voduc D, et al. Ki 67 index, HER2 status and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009;101(10):736-50.
39. Prat A, Cheang MC, Martin M, et al. Prognostic significance of progesterone receptor-positive tumor cells within immunohistochemically defined luminal A breast cancer. *J Clin Oncol* 2012;31(2):203-9.
40. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2013. *Ann Oncol*. 2013;24(9):2206-23.
41. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, et al. Tailoring therapies-improving the management of early breast cancer: St Gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2015. *Ann Oncol*. 2015;26(8):1533-46.
42. Paik S, Shak S, Tang G, et al. Expression of the 21 genes in the Recurrence Score assay and tamoxifen clinical benefit in the NSABP study B-14 of node negative, estrogen receptor positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2005;23: abstract 510.
43. Badve SS, Baehner FL, Gray PR, et al. Estrogen and progesterone-receptor status in ECOG 2197: Comparison of immunohistochemistry by local and central laboratories and quantitative reverse transcription polymerase chain reaction by central laboratory. *J Clin Oncol* 2008;26(15):2473-81.
44. Allred DC. Problems and solutions in the evaluation of hormone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol* 2008;26(15):2433-5.
45. Nielsen TO, Parker JS, Leung S, et al. A comparison of PAM50 intrinsic subtyping with immunohistochemistry and clinical prognostic factors in tamoxifen-treated estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2010;16(21):5222-32.
46. Toy W, Weir H, Razavi P, et al. Activating ESR1 mutations differentially affect the efficacy of ER antagonists. *Cancer Discov* 2017;7(3):277-87.
47. Jeselsohn R, Buchwalter G, De angelis C, et al. ESR1 mutations - a mechanism for acquired endocrine resistance in breast cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2015;12(10):573-83.
48. Schiavon G, et al. Analysis of ESR1 mutation in circulating tumor DNA demonstrates evolution during therapy for metastatic breast cancer. *Sci Transl Med*. 2015; 7:313ra182.
49. Chandraratnam S, Chen D, He W, et al. Prevalence of ESR1 mutations in cell-free DNA and outcomes in metastatic breast cancer: A secondary analysis of the BOLERO-2 clinical trial. *JAMA Oncol* 2016;2(10):1310-5.
50. Spoerke JM, Gendreau S, Walter K, et al. Heterogeneity and clinical significance of ESR1 mutations in ER-positive metastatic breast cancer patients receiving fulvestrant. *Nature Commun* 2016;7: 11579.
51. Turner NC, Jiang Y, O'Leary B et al. Efficacy of palbociclib plus fulvestrant (P+F) in patients (pts) with metastatic breast cancer (MBC) and ESR1 mutations (mus) in circulating tumor DNA (ctDNA). *J Clin Oncol* 2016;34 (suppl):abstr 512.
52. Fribbens C, O'Leary B, Kilburn L, et al. Plasma ESR1 mutations and the treatment of estrogen receptor-positive advanced breast cancer. *J Clin Oncol*. 2016;34(25):2961-8.
53. Augusto L, Sarafan-Vasseur N, Perdrix A, et al. Prognostic and predictive value of circulating ESR1 mutations in metastatic breast cancer patients (mBC) progressing under aromatase inhibitor (AI) treatment. Oral presentation at: 2016 ASCO Annual Meeting. June 3-7, 2016; Chicago, IL.
54. Clatot F, Perdrix A, Augusto L, et al. Kinetics, prognostic and predictive values of ESR1 circulating mutations in metastatic breast cancer patients progressing on aromatase inhibitor. *Oncotarget*. 2016;7(46):74448-59.

► Capítulo 13

Oncogen HER2.

Begoña Bermejo de las Heras, María Teresa Martínez Martínez, Ana Lluch Hernández.

1. Introducción.

El receptor de estrógenos (RE) y la vía de señalización HER2 (c-erbB2, HER2 / neu) son los principales implicados en la proliferación y supervivencia celular en la mayoría (85%) de los cánceres de mama.

Los tejidos normales tienen una baja expresión de la proteína de membrana HER2. La sobreexpresión de HER2 se observa en el 20% de los cánceres de mama y en algunos cánceres ováricos y gástricos, y confiere un peor comportamiento biológico y una mayor agresividad en el cáncer de mama^{1,2}.

El oncogén HER2 ha sido implicado en numerosos modelos experimentales en la patogénesis del cáncer de mama. Se ha demostrado que la sobreexpresión y amplificación de HER2 promueve la carcinogénesis y por esta razón el cáncer de mama HER2 positivo se ha convertido en un objetivo ideal para el desarrollo de fármacos dirigidos contra esta diana celular.

La familia de las glicoproteínas HER/erbB está compuesta por cuatro miembros: HER1 o EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor), HER2 (que no tiene ligando conocido), HER3 (que carece de actividad tirosin-kinasa) y HER4. Los receptores HER se caracterizan por ser glicoproteínas transmembrana compuestas por 3 dominios (extracelular, transmembrana e intracelular con actividad protein-kinasa).

Esta familia de receptores se encuentra expresada en las células epiteliales, mesenquimales, neuronales y en sus progenitores celulares. La familia de receptores ErbB regula la proliferación, diferenciación y la función de numerosos tejidos en humanos y una desregulación de su función está relacionada con diferentes neoplasias^{3,4}.

Cuando estos receptores se activan son traslocados al núcleo, donde participan en la señal celular. La dimerización de estos receptores, ya sea entre dos diferentes miembros de la familia (heterodimerización) o entre los mismos receptores HER (homodimerización), genera una cascada de señalización capaz de activar otras vías, las más importantes son

la vía Raf/Ras/MAP kinasa, la vía de la fosfolipasa C gamma y la vía de señalización PI3 kinasa/Akt. De este modo, controlan numerosos procesos celulares como la angiogénesis, la proliferación, la diferenciación, la supervivencia/apoptosis, la migración, la invasión y las metástasis.

El gen del receptor del factor del crecimiento epidérmico humano HER2/neu, se localiza en el brazo largo del cromosoma 17 y codifica la proteína HER2, un receptor transmembrana de 185 kDa con actividad tirosin-kinasa (TK)⁵.

En el cáncer de mama el papel que juega HER2 en su patogénesis es bien conocido, y actualmente se está estudiando la implicación del resto de los receptores de la familia HER.

2. Biología y señales intracelulares mediadas por la familia HER2.

La vía HER2 se nos ha mostrado como una red biológica compleja compuesta por tres partes diferenciadas, una parte de entrada formada por receptores de membrana y sus ligandos con la finalidad de activar la señal procedente del exterior de la célula, una segunda parte de procesamiento de proteínas quinasas que transmiten la señal al núcleo celular, y finalmente una tercera parte en la que actuarían los factores de transcripción que regularían diferentes genes que afectan a diversas funciones celulares⁶.

La primera parte, de entrada, está compuesta por 4 receptores de membrana / tirosina-kinasas (TKs) (HER1-4) y sus muchos ligandos⁷ (al menos 11 conocidos). En el cáncer de mama, HER2 es el receptor TK dominante, amplificándose en el 20% de los casos⁸. Tras la unión del ligando a sus dominios extracelulares, las proteínas HER sufren una dimerización y transfosforilación de sus dominios intracelulares. HER2 no tiene un ligando y su activación depende de la heterodimerización con otro miembro de la familia, o homodimerización consigo mismo cuando se expresa a niveles muy altos. Estos residuos de tirosina fosforilados se acoplan con numerosas moléculas de señalización intracelular, que conducen a la activación de las vías secundarias del segundo mensajero y crosstalk con otras vías de señalización de la membrana^{7,9}. Los factores de transcripción activados por esta vía regulan muchos de los genes implicados en la proliferación celular, supervivencia, diferenciación, angiogénesis, invasión y metástasis.

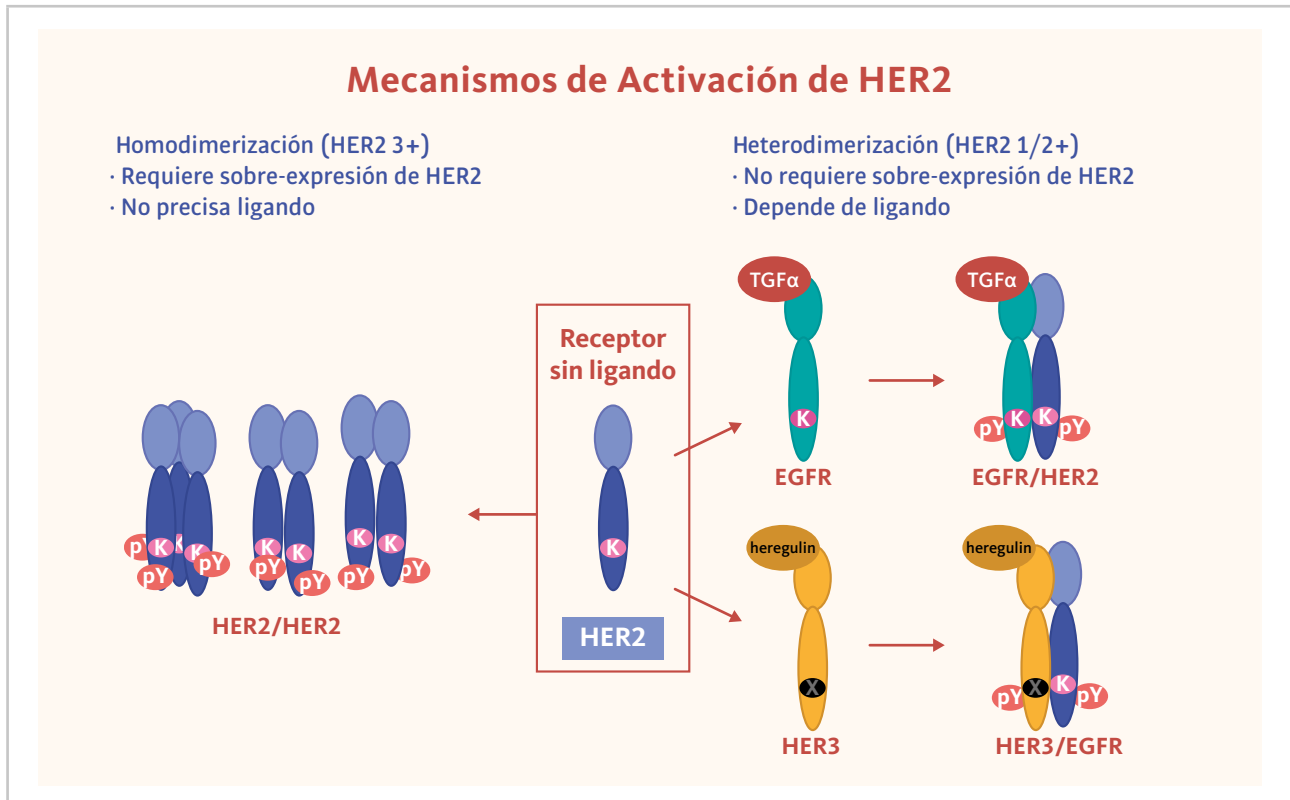


Figura 13 .1. Activación de HER2 mediante homodimerización y heterodimerización. Modificado de: Albanell J, et al. *Adv Exp Med Biol*. 2003;533-68.

HER2 tiene la actividad de kinasa catalítica más fuerte y los heterodímeros que contienen HER2 tienen la actividad de señalización más fuerte¹⁰. HER2 se encuentra en una conformación abierta exponiendo sus dominios de dimerización. De este modo, se convierte en el compañero de dimerización de elección entre los miembros de la familia. HER3 es activado por unión a su ligando (heregulina) pero carece de actividad de TK, y, al igual que HER2, debe asociarse con otro miembro de la familia para ser activado. Sin embargo, tiene múltiples sitios de acoplamiento para PI3K y cuando heterodimeriza con HER2 es el estimulador más potente de la vía PI3K / AKT. HER2 también se puede activar mediante la unión con otros receptores de membrana, como el receptor del factor de crecimiento I de la insulina. Incluso los estrógenos han demostrado activar la señalización HER2. **Fig. 13.1**

3. Tumorigénesis mediada por HER2.

La evidencia científica publicada sitúa al aumento en la expresión de HER2 en las células como un mecanismo capaz de inducir la transformación celular y la tumorigénesis. Los mecanismos de tumorigénesis mediada por HER2/neu son desconocidos, se han propuesto diferentes mecanismos y vías para explicarlo^{9,11}:

► Sobreexpresión.

Según este modelo la sobreexpresión de HER2 llevaría al aumento de actividad celular y a promover funciones tumorigénicas.

► Sobreactividad de HER2.

Las mutaciones en el dominio de la kinasa HER2 llevarían a una mayor actividad de HER2 a través de un aumento de la kinasa que se fosforila sobre sí misma.

► **Desregulación de la señalización de la familia HER.**

La sobreexpresión de HER2 conlleva una mayor heterodimerización con HER3 y EGFR. En comparación con otros miembros de la familia, HER2 está menos sujeto a mecanismos de inactivación y la formación de heterodímeros conduce a una señalización prolongada. Este hecho explica cómo EGFR es el único miembro que sufre una degradación endocítica después de la activación mediada por el ligando, pero los heterodímeros EGFR-HER2 incrementan la potencia y la duración de la señalización dado que evaden la degradación endocítica y activan vías como PI3K, Ras y PLCγ.

► **Señalización a través de HER3 y la vía PI3K/Akt.**

El complejo formado por HER2 y HER3 induce transformación celular a través de la activación de la vía PI3K/Akt. HER2 carece de sitios de unión para la subunidad p87 de PI3K mientras que, HER3 posee siete enlaces fosfotirosina para p87. La activación mediada por la vía PI3K/Akt se lleva a cabo a través de la fosforilación de HER3. Esta activación conlleva un cruce de múltiples vías de transducción de señales que regulan numerosas funciones celulares, incluyendo la transición epitelio-mesénquimal, la angiogénesis, la estabilidad genómica, la proliferación y la supervivencia celular.

► **Papel de las kinasas Src.**

Las kinasas Src son proteínas que cuando se activan son potencialmente tumorigénicas. La evidencia científica sugiere que las kinasas Src actuarían como segundos mensajeros de HER2. La activación de estas kinasas se ha observado en muchos cánceres de mama con o sin sobreexpresión de HER2. El mecanismo definitivo de cómo HER2 es capaz de activar Src es desconocido actualmente pero se ha sugerido que HER2 podría activar Src a través de la fosforilación directa de Src en su dominio SH2. También se ha evidenciado que Src mejora la dimerización entre HER2-HER3 y aumenta sus auto y transfosforilaciones y actividades de señalización.

► **Transcripción alternativa de HER2.**

Las mutaciones en HER2 que conllevan una delección de los 16 aminoácidos de la región juxta-membrana conllevan una alteración en la estructura disulfuro de las proteínas, dejando residuos de cisteína no emparejados que quedan disponibles para la unión intermolecular. Esta proteína HER2 alternativa, denominada ΔHER2 es capaz de incrementar la señalización independiente del ligando. Estos transcritos ΔHER2 se han detectado en un gran número de tumores de cáncer de mama.

► **Desregulación del ciclo celular.**

La sobreexpresión de HER2 en las células epiteliales de mama desregula el control del ciclo celular, en particular del punto de control G1/S a través del aumento de la ciclina D1, E, y de la degradación de p27.

► **El papel de los vecinos de HER2.**

La sobreexpresión de HER2 en el cáncer de mama se debe en la mayor parte de los casos a una amplificación del segmento 17q12-q21 del cromosoma 17. Este segmento posee información de otros 9 genes además de HER2, de los cuales 5 estarían también sobreexpresados. Estos genes son GRB7, MLN64, PNMT, MGC9753 y MGC14832, y se está estudiando su relevancia funcional en la tumorigénesis impulsada por HER2.

► **Anomalías genómicas relacionadas con HER2.**

Además de los genes situados en el segmento 17q12-q21 del cromosoma 17, se ha observado que los cánceres de mama a menudo contienen otras alteraciones genómicas, como amplificaciones en 20q y delecciones en 18q que también podrían contribuir en la biología de los tumores HER2 amplificados, tales como el gen de la topoisomerasa IIa (TOP2A) y el gen PTPN1.

► **Disrupción de la adhesión y polaridad celular.**

En modelos experimentales se ha podido observar que la activación y la homodimerización de HER2 conduce a la pérdida de la polaridad celular y al desorden proliferativo en las células epiteliales mamarias.

► **El papel de las mucinas transmembrana.**

Existe evidencia de que las mucinas transmembrana son capaces de facilitar las interacciones entre los miembros de la familia HER. HER2 interactúa con la mucina Muc 4 de membrana y parece que esta mucina es capaz de potenciar la actividad de señalización HER2-HER3. De acuerdo con esta hipótesis, el aumento en la expresión de Muc 4 conllevaría un peor pronóstico en varios tipos de cáncer, incluso en aquellos que no sobreexpresan HER2.

4. Detección de HER2 en cáncer de mama: técnicas diagnósticas.

La determinación de HER2 en las pacientes con cáncer de mama ha sido desde sus inicios problemática, con tasas de discordancia entre un laboratorio local y un laboratorio central y experto hasta en un 20% para inmunohistoquímica (IHQ) y para técnicas de hibridación fluorescente *in situ* (FISH)¹². Los errores son inaceptables teniendo en cuenta que la prueba se utiliza para seleccionar pacientes para terapia potencialmente curativa y costosa.

En 2007, y posteriormente en 2013, la Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO) y el Colegio de Patólogos Americanos (APC) desarrollaron recomendaciones para la optimización de la prueba de HER2¹³. Actualmente la determinación de HER2 se realiza mediante varios métodos:

- Inmunohistoquímica (IHQ).
- Hibridación *in situ* por fluorescencia (FISH).
- Hibridación cromogénica *in situ* (CISH).
- Hibridación *in situ* reforzada con plata (SISH).

Estas pruebas se realizan en muestras tumorales que se fijan en formalina tamponada y se embeben en parafina.

▼ **HER2. Inmunohistoquímica.**

La inmunohistoquímica (IHQ) detecta la sobreexpresión de la proteína HER2 usando anticuerpos monoclonales o policlonales que se unen a la proteína. Actualmente en los Estados Unidos hay dos métodos aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) para la evaluación de HER2: HerceptTestTM (DAKO, Glostrup Denmark) y HER2 / neu (4B5) anticuerpo monoclonal primario de conejo (Ventana, Tucson, Arizona).

La evaluación exacta de HER2 se determina no sólo por la elección del anticuerpo, sino también por otros determinantes tales como fijación de tejido, tiempo de fijación y determinación de umbrales para reportar resultados positivos. Según las directrices de la Sociedad Americana de Oncología Clínica / Colegio Americano de Patólogos (ASCO / CAP), los requisitos óptimos de manipulación de tejidos incluye el tiempo desde la adquisición del tejido hasta la fijación, que debe ser lo más corto posible.

Todas las muestras usadas para el test deben comenzar la fijación rápidamente (dentro de 1 hora, la fijación debe hacerse en formalina 10% neutra tamponada por 6-48 horas) y se debe registrar el tiempo de fijación y la duración de la fijación para cada muestra¹³. Se recomiendan procedimientos adicionales de validación interna y de confirmación de la calidad de la IHQ. Los resultados de la prueba HER2 por IHQ se clasifican en tres categorías: positiva (+++), equívoca (++) y negativa (+/-). Cada uno de estos resultados desencadena un manejo diferente del paciente¹³. En el 2013 se introdujeron nuevos cambios en las determinaciones de HER2 respecto a las guías del 2007:

- **Se considera un resultado de IHQ positivo (+++ o 3+):**
 - Cuando la tinción de membrana es circunferencial, completa e intensa en >10% de las células tumorales invasoras (patrón “chicken wire”, siempre observar un área homogénea y contigua de células invasoras).
 - Resumen IHQ positiva (+++ ó 3+): Tinción positiva (+++ ó 3+).

► **Se considera un resultado equivoco con IHQ (++) o 2+):**

- Cuando la tinción de membrana es circunferencial pero incompleta y/o débil/moderada en >10% de las células invasoras.
- Cuando la tinción de membrana es completa y circunferencial, intensa en < 10% de las células invasoras.
- Es obligatorio usar test confirmatorio (FISH, CISH, SISH) para poder calificarlo de positivo o negativo.
- Resumen IHQ equívoca o indeterminada: Tinción 2+.

► **Se considera un resultado negativo (+ ó -):**

- Cuando la tinción de membrana incompleta es poco perceptible o débil en >10% de las células invasoras, se considera IHQ negativa 1+.
- Cuando no se observa tinción se considera IHQ negativa (0).
- Cuando la tinción de membrana es incompleta/débil o apenas perceptible en <10% de las células invasoras se considera IHQ negativa (0).
- Resumen IHQ negativa: Tinción negativa (0 ó 1+).

También se recomiendan varios criterios de interpretación adicionales para HER2 por IHQ como la calidad de los controles, la tinción de la muestra, la puntuación de sólo el carcinoma invasivo y el estado del tejido normal adyacente que no debe contaminarse. El informe de los resultados debe ser estandarizado e incluir todos los ítems anteriores, incluyendo el tiempo de fijación, el método de IHQ utilizado, el resultado obtenido y su interpretación¹³. Las recomendaciones no especifican el anticuerpo primario, el método de recuperación de antígenos o el sistema de detección, todos los cuales pueden afectar el resultado. Parece lógico utilizar un método que ha sido validado en muestras clínicas y publicado en la literatura.

▼ **HER2. Análisis molecular.**

La hibridación *in situ* fluorescente (FISH) o cromogénica (CISH) para la amplificación del gen HER2neu, se ha convertido en una parte integral del trabajo diagnóstico para pacientes con cáncer de mama. Los principios de hibridación *in situ* son simples: se generan sondas de ADN complementarias a secuencias genómicas de interés, se etiquetan y después se hibridan con el tejido diana. Los métodos FISH / CISH pueden aplicarse a una amplia gama de muestras: líneas celulares, tejido congelado, tejido embebido en parafina y matrices de micro-tejidos.

► **Análisis molecular mediante FISH: Utiliza microscopía de fluorescencia.**

- HER2 FISH positivo se define como un promedio de >6 copias del gen HER2 / núcleo para sistemas de prueba sin una sonda de control interno o bien HER2 / CEP 17 de más de 2,2, donde CEP17 es una sonda centromérica para el cromosoma 17 en la que reside el gen HER2.
- El rango equívoco para los ensayos HER2-FISH se define como relaciones HER2 / CEP de 1,8 a 2,2 o el número medio de copias de genes entre 4,0 y 6,0 para aquellos sistemas sin control interno.
- La amplificación negativa de HER2-FISH se define como la relación HER2 / CEP17 de menos de 1,8 ó un promedio de menos de cuatro copias del gen HER2 por núcleo para sistemas sin sonda de control interno.

► **Análisis molecular mediante CISH: Utiliza microscopía óptica.**

- La hibridación cromogénica *in situ* (CISH) utiliza cromógenos para la identificación de la señal por medio del etiquetado indirecto¹⁴. CISH tiene algunas ventajas en la detección de la amplificación génica sobre FISH:
 - 1/ Tinción permanente, las muestras se pueden archivar.
 - 2/ Uso de microscopía de campo brillante.
 - 3/ Fácil identificación de las células diana.
 - 4/ La heterogeneidad del tumor se puede evaluar fácilmente¹⁴.

► **Análisis molecular mediante SISH:**

Los sistemas completamente automatizados, como la ISH (SISH) (Ventana) de plata brillante, deberían ayudar en la estandarización de métodos.

Mientras que las estimaciones de CISH de amplificación de genes se correlacionan muy bien con FISH, CISH no permite una determinación del número real de copias de genes.

Los protocolos FISH y CISH usualmente requieren dos días para completarse. La exploración FISH automatizada se está desarrollando. CISH por otro lado, es menos lenta, es más fácil de leer por los patólogos debido a las similitudes con IHQ, y requiere sólo microscopía de campo brillante. Los métodos CISH como el kit SPOT-Light HER2 CISH (Invitrogen) están aprobados por la FDA.

Debido a las ventajas sobre IHQ, algunos han considerado la hibridación *in situ* el método de elección para la prueba de genes HER2¹⁵. Diferentes kits han sido aprobados por la FDA: PathVysion (Vysis, Abbott Laboratories, Abbott Park, IL), HER2 FISH Pharm Dx (Dako) e Inform (Ventana). Los dos primeros son pruebas FISH de doble color y el último utiliza sólo una sonda específica para HER2. Los dos primeros usan relaciones HER2 / CEP17, y el tercero se basa en el recuento de señales de la sonda HER2.

Otros expertos continúan recomendando IHQ con confirmación por FISH en casos calificados como ++ por IHQ. Ambas estrategias tienen ventajas y desventajas y requieren conocimientos en su interpretación.

La hibridación *in situ* reforzada con plata (SISH) es una técnica altamente sensible que requiere menos reactivos que FISH o CISH. Al igual que CISH, la tinción SISH es permanente y no decae, permitiendo que los especímenes sean archivados. A diferencia de CISH, SISH permite cuantificación cuantitativa del número de copias de genes.

5. Implicaciones clínicas.

El oncogén HER2 es un miembro importante de la familia HER de receptores tirosin-kinasa de membrana. **Fig. 13.2** / **Fig. 13.3** Véase pág. 108. El gen se amplifica en un subconjunto de cánceres de mama en los que el HER2 es el principal impulsor de la proliferación y supervivencia de las células tumorales. Los avances terapéuticos en el bloqueo de esta vía han mejorado notablemente el pronóstico de los pacientes con cáncer de mama HER2+, pero el tratamiento sólo es efectivo en pacientes cuyos tumores expresan altos niveles de la proteína o se amplifican para el gen. El papel del patólogo en la evaluación precisa del estado HER2 de un tumor es crítico para el éxito del tratamiento.

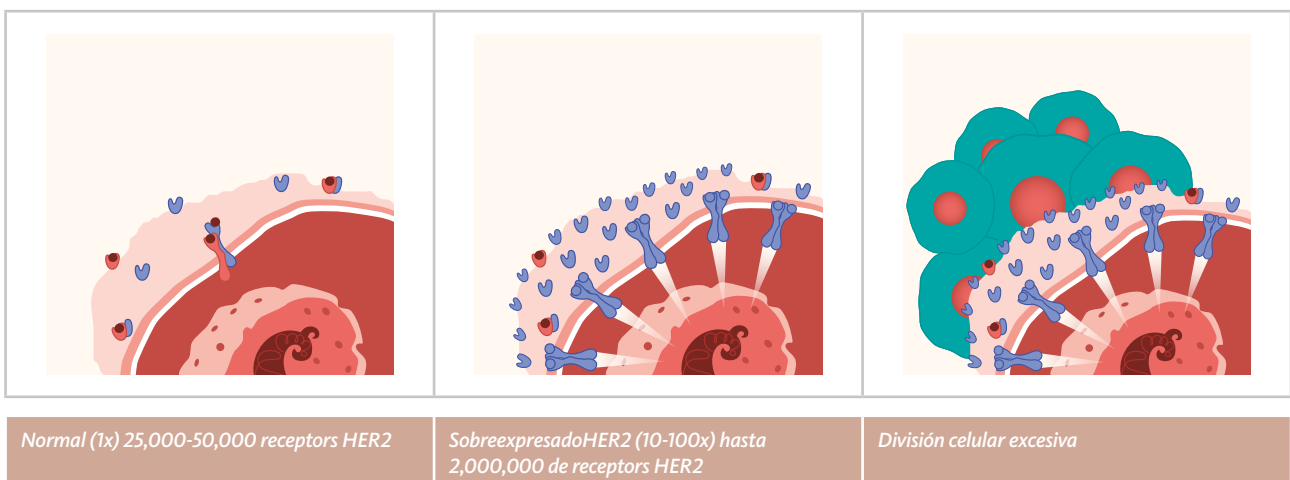


Figura 13.2. Sobreexpresión de HER2 en cáncer de mama.

HER2 está sobreexpresado en un 25% de los cánceres de mama.

Modificado de:

Pegram MD, et al. Cancer Treat Res. 2000;103:57-75. Ross JS, et al. Am J Clin Pathol. 1999;112(suppl 1):S53-S71. Slamon DJ, et al. Science. 1987;235:177-82.

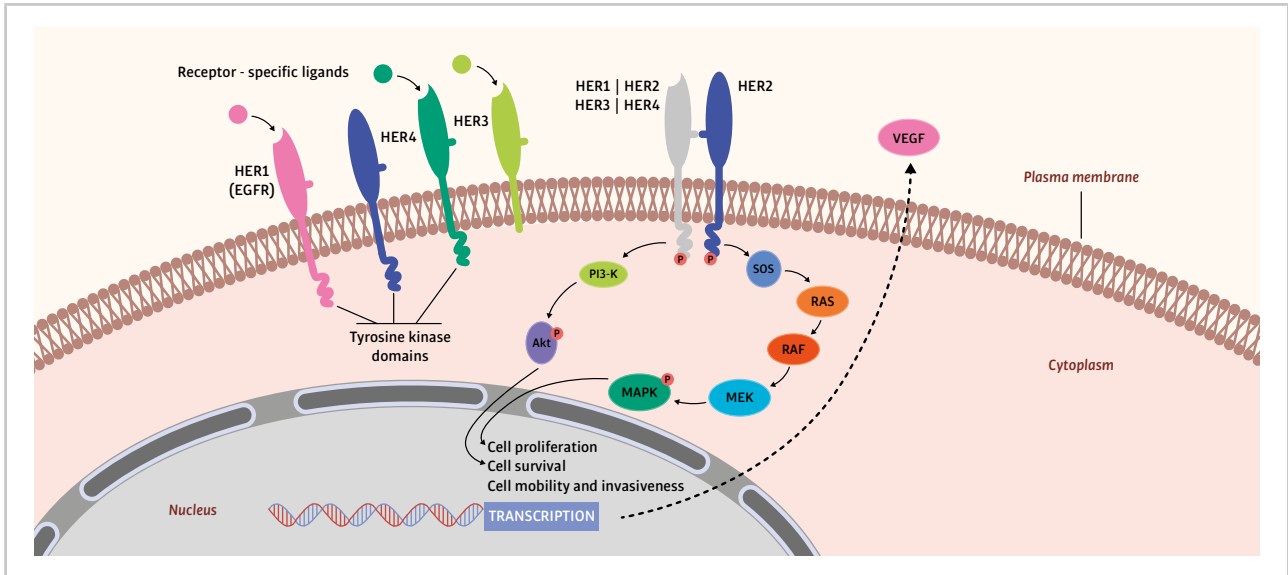
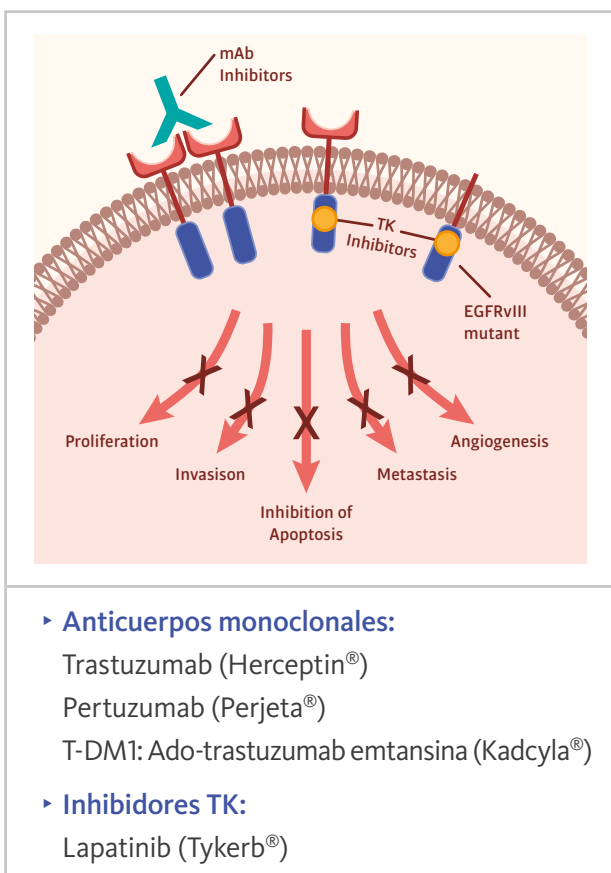


Figura 13.3. Burstein HJ, et al. N Engl J Med. 2005;353:1652-4.



► **Anticuerpos monoclonales:**

- Trastuzumab (Herceptin®)
- Pertuzumab (Perjeta®)
- T-DM1: Ado-trastuzumab emtansina (Kadcyla®)

► **Inhibidores TK:**

- Lapatinib (Tykerb®)

Figura 13.4. Fármacos anti HER2.

▼ **HER2 Terapia dirigida en la clínica.**

Actualmente, diferentes fármacos están aprobados por la FDA para el tratamiento de cánceres HER2 positivos. **Fig. 13.4**

► **Trastuzumab (Herceptin®):**

Es un anticuerpo monoclonal humanizado con la especificidad para el dominio extracelular de HER2. Su mecanismo de acción de manera precisa todavía no está totalmente claro. Aunque no bloquea la autofosforilación de HER2, sí inhibe la señalización intracelular de HER2. Además, puede interrumpir la interacción HER2/Src, puede causar la internalización y la regulación negativa del receptor, y puede aumentar la citotoxicidad mediada por anticuerpos.

El tratamiento con trastuzumab es hoy en día el pilar fundamental del tratamiento de las pacientes con cáncer de mama (CM) subtipo HER2 positivo.

En el contexto metastásico, Slamon et al. evaluaron que la adición de trastuzumab a la quimioterapia en pacientes con CM metastásico (CMM) HER2 + mejoraba no solo la supervivencia libre de enfermedad (SLE), sino también la supervivencia global (SG) y la tasas de respuesta. Desde este primer ensayo, muchos otros posteriores corroboraron el beneficio de trastuzumab en términos de supervivencia para el tratamiento de CMM.

Posteriormente la aprobación de trastuzumab en el escenario adyuvante establecido por la FDA en 2006, mejoró notablemente el pronóstico de estas pacientes en estadios iniciales. La evidencia científica es definitiva para recomendar trastuzumab adyuvante en todas las pacientes con cáncer de mama HER2+ con tumores mayores de 1 cm, independientemente del estatus ganglionar¹⁶. Incluso en pacientes con tumores que miden 0,6 a 1,0 cm y con ganglios negativos, también debería considerarse, particularmente en la enfermedad receptor de estrógeno negativa. En la mayoría de los estudios, trastuzumab se administró durante 1 año. No se demostró ningún beneficio adicional en su administración durante 2 años.

Debido a su cardiotoxicidad, el trastuzumab no debe ser administrado concomitantemente con antraciclinas. La combinación con taxanos es segura y se ha demostrado que es más eficaz que el tratamiento secuencial. Ambos AC (adriamicina / ciclofosfamida) seguido de paclitaxel / docetaxel con trastuzumab durante 1 año a partir de la primera dosis de taxano o TCH (taxano / carboplatino / trastuzumab) son los regímenes preferidos¹⁷.

El tratamiento con trastuzumab es el pilar fundamental de los pacientes diagnosticados con CM HER2 +, incluso si se tratan con una terapia sistémica adyuvante menos tóxica, como recientemente ha sido demostrado por investigadores de Dana Farber¹⁸ en un ensayo prospectivo no aleatorizado, donde se evaluó un tratamiento adyuvante de quimioterapia consistente en paclitaxel semanal a 80 mg/m² y trastuzumab durante 12 semanas, seguido de 9 meses de trastuzumab, en 406 mujeres con tumores HER2-positivos, ganglios negativos, tumores ≤ 3 cm, con una SLE a los 3 años 98,7% ($p < 0,0001$). El régimen se asoció con gran seguridad cardíaca.

En el contexto neoadyuvante, trastuzumab en combinación con quimioterapia (basada en taxanos y antraciclinas) ha sido el tratamiento estándar para tumores HER2 positivos con compromiso axilar o tamaño ≥ 2 cm¹⁹. El bloqueo dual anti-HER2 ha conducido a mayores tasas de respuestas patológicas completas, (trastuzumab + pertuzumab) en comparación con la quimioterapia asociada con trastuzumab como agente biológico

único, como se muestra en el estudio NEOSPHERE²⁰. Estos datos han sido fundamentales para la aprobación acelerada de esta combinación, que sigue dependiendo de los resultados de un ensayo confirmatorio adyuvante. El doble bloqueo de lapatinib-trastuzumab no se tradujo en una mejora en términos de supervivencia, en el escenario adyuvante por lo que hoy en día es una combinación únicamente indicada en el tratamiento de CMM.

► Pertuzumab (Perjeta®):

Es un anticuerpo monoclonal humanizado que se une a HER2 en un epítipo distinto al que el que se une al trastuzumab, siendo en combinación con trastuzumab un inhibidor eficaz de la vía de señalización EGFR / HER2. Los estudios de pertuzumab como agente biológico único (sin combinarse con trastuzumab) no demostraron beneficio ni en respuesta ni en supervivencia.

El estudio CLEOPATRA, un estudio de Fase III en el que el pertuzumab se añadió a la combinación estándar de docetaxel y trastuzumab, para el tratamiento de primera línea del cáncer de mama metastásico (CMM), demostrando unas mejoras sorprendentes en supervivencia libre de progresión (SLP) y supervivencia global (SG) siendo este por tanto el tratamiento actual de elección, siempre que no haya contraindicaciones²¹. Así mismo tal y como hemos citado previamente obtuvo la aprobación acelerada de la FDA y posteriormente de la agencia europea del medicamento (EMA) para su uso en combinación con trastuzumab y taxanos en el escenario de tratamiento neoadyuvante.

► Lapatinib (Tykerb®):

Lapatinib es un inhibidor de la tirosin-kinasa (TKIs) que funciona mediante un mecanismo diferente para inhibir la señalización de HER2. Es una pequeña molécula que inhibe el dominio intracelular tirosina kinasa de HER1 y HER2 de forma reversible. Se ha demostrado que este fármaco causa remisiones en pacientes con tumores que son resistentes al trastuzumab. Lapatinib podría seguir siendo eficaz en pacientes cuyos tumores expresan altos niveles de HER2 p95 (HER2 truncado). Esta forma de HER2 perdió el dominio extracelular al que se une el trastuzumab.

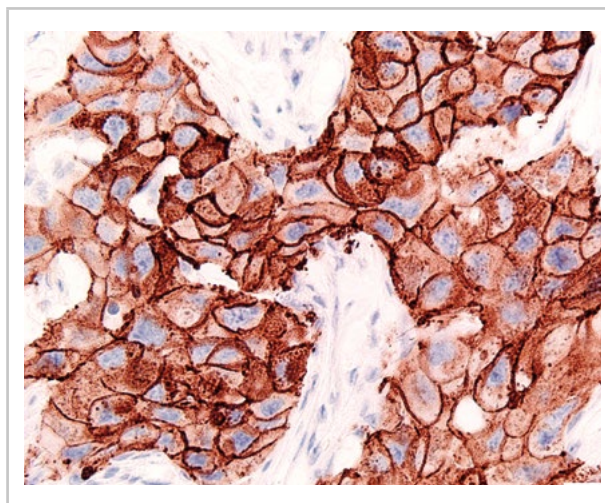
Otros TKIs que bloquean irreversiblemente la fosforilación de estos receptores están actualmente en desarrollo, como el neratinib.

Lapatinib está aprobado para el tratamiento de CMM en combinación con capecitabina en pacientes que han recibido tratamiento previo con trastuzumab²². Además, está aprobado en combinación con letrozol para el tratamiento en mujeres posmenopáusicas con CMM HER2+ y RH+. Así mismo la combinación de trastuzumab con lapatinib es una estrategia de tratamiento también válida para el CMM HER2+ que ha progresado con trastuzumab.

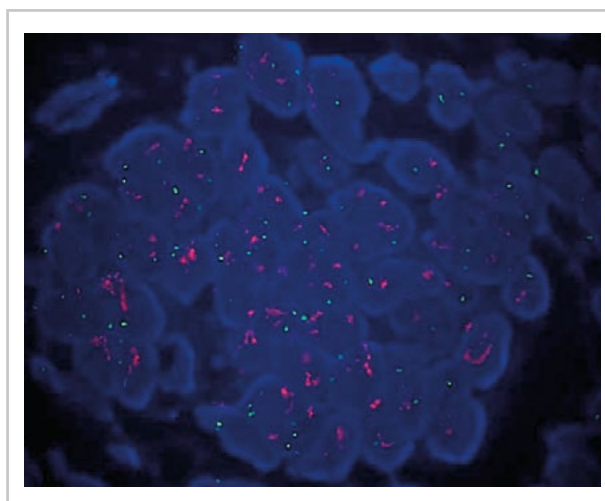
▶ **T-DM1 (Kadcyla®):**

T-DM1 es un nuevo fármaco antineoplásico innovador, único y selectivo, aprobado por la EMA para el tratamiento del CMM HER2+. T-DM1 es un conjugado anticuerpo-fármaco (ADC, “**Anti-body-Drug Conjugate**”), compuesto por el anticuerpo anti-HER2 trastuzumab y por el agente citotóxico antimicrotúbulos DM1, unidos mediante un enlace estable. Gracias a este innovador diseño, T-DM1 actúa de forma selectiva sobre las células tumorales HER2-positivas, ejerciendo por un lado los mecanismos de acción propios de trastuzumab y por el otro lado el potente efecto citotóxico propio de DM1. La liberación selectiva de DM1 en la célula HER2+, permite que la toxicidad sistémica sea limitada, por lo que es un fármaco muy bien tolerado por la mayoría de pacientes.

T-DM1 fue superior a lapatinib más capecitabina (antes la segunda línea estándar) en términos de tasa de respuesta, SLP y SG en las pacientes tratadas previamente con trastuzumab de primera línea²³. T-DM1 es la opción de segunda línea preferida para esta población.



HER2 por técnica de IHQ.



HER2 amplificado por técnica de hibridación in situ e inmunofluorescencia (FISH).

☞ Take-Home messages: Ideas a retener.

- El oncogén HER2 es un miembro importante de la familia HER de receptores tirosin-kinasa de membrana. El gen se amplifica en un subconjunto de cánceres de mama en los que el HER2 es el principal impulsor de la proliferación y supervivencia de las células tumorales.
- HER2 positivo por IHQ (+++ ó 3+): Tinción positiva (+++ ó 3+).
- HER2 equívoco o indeterminado por IHQ: Tinción ++ ó 2+.
- HER2 negativo por IHQ: Tinción negativa (0 ó 1+).
- Se deberá efectuar una determinación del HER2 por FISH en HER2 por IHQ equívoco o indeterminado para valorar su positividad o negatividad.
- Actualmente, diferentes fármacos están aprobados por la FDA para el tratamiento de cánceres HER2 positivos: Trastuzumab (Herceptin®), Pertuzumab (Perjeta®), Lapatinib (Tykerb®), T-DM1 (Kadcyla®).

☞ Bibliografía:

1. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER2/neu oncogene. *Science*. 1987;235(4785):177-82.
2. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, et al. Studies of the HER2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science*. 1989;244(4905):707-12.
3. Carpenter G, Liao HJ. Trafficking of receptor tyrosine kinases to the nucleus. *Exp Cell Res* 2009;315(9):1556-66.
4. Kainulainen V, Sundvall M, Maatta JA, et al. A natural ErbB4 isoform that does not activate phosphoinositide 3-kinase mediates proliferation but not survival or chemotaxis. *J Biol Chem* 2000;275(12):8641-9.
5. Akiyama T, Sudo C, Ogawara H, et al. The product of the human c-erbB-2 gene: a 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. *Science* 1986;232(4758):1644-6.
6. Citri A, Yarden Y. EGF-ERBB signalling: towards the systems level. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006;7(7):505-16.
7. Citri A, Yarden Y. EGF-ERBB signalling: towards the systems level. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006 Jul; 7(7):505-516.
8. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER2/neu oncogene. *Science*. 1987;235(4785):177-82.
9. Moasser MM. The oncogene HER2: its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis. *Oncogene*. 2007;26(45):6469-87.
10. Schulze WX, Deng L, Mann M. Phosphotyrosine interactome of the ErbB-receptor kinase family. *Mol Syst Biol*. 2005;1:2005.0008.
11. Andreck ER, Hardy WR, Siegel PM, et al. Amplification of the neu/erbB-2 oncogene in a mouse model of mammary tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97(7):3444-9.
12. Pérez EA, Suman VJ, Davidson NE, et al. HER2 testing by local, central, and reference laboratories in specimens from the North Central Cancer Treatment Group N9831 intergroup adjuvant trial. *J Clin Oncol*. 2006; 24(19):3032-8.
13. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*. 2013;31(31):3997-4013.
14. Lambros MB, Natrajan R, Reis-Filho JS. Chromogenic and fluorescent in situ hybridization in breast cancer. *Hum Pathol*. 2007;38(8):1105-22.
15. Sauter G, Lee J, Bartlett JM, et al. Guidelines for human epidermal growth factor receptor 2 testing: biologic and methodologic considerations. *J Clin Oncol*. 2009;27(8):1323-33.
16. Pérez EA, Romond EH, Suman VJ, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer: planned joint analysis of overall survival from NSABP B-31 and NCCTG N9831. *J Clin Oncol*. 2014;32(33):3744-52.
17. Slamon D, Eiermann W, Robert N, et al. Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*. 2011;365(14):1273-83.
18. Tolaney SM, Barry WT, Dang CT, et al. Adjuvant paclitaxel and trastuzumab for node-negative, HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*. 2015;372(2):134-41.
19. Gianni L, Eiermann W, Semiglazov V, et al. Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (the NOAH trial): a randomised controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort. *Lancet*. 2010;375(9712):377-84.
20. Gianni L, Pienkowski T, Im YH et al. 5-year analysis of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in patients with locally advanced, inflammatory, or early-stage HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a multicentre, open-label, phase 2 randomised trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(6):791-800.
21. Swain SM, Baselga J, Kim S-B, et al. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel in HER2-positive metastatic breast cancer. *N Engl J Med*. 2015;372(8):724-34.
22. Geyer CE, Forster J, Lindquist D, et al. Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med*. 2006;355(26):2733-43.
23. Welslau M, Dieras V, Sohn JH, et al. Patient-reported outcomes from EMILIA, a randomized phase 3 study of trastuzumab emtansine (T-DM1) versus capecitabine and lapatinib in human epidermal growth factor receptor 2-positive locally advanced or metastatic breast cancer. *Cancer* 2014;120(5):642-51.

► Capítulo 14

Ki67

Màxim Izquierdo Sanz, Ricardo Rezola Solaun, Ander Urruticoechea Ribate.

Ki67 es una proteína nuclear no histona¹, cuya expresión, cíclica, está unida a la proliferación celular. Su nombre proviene del lugar donde fue descrito Kiel (Ki) y el número del pocillo de la placa de 96 en que se describió como antígeno presente en células de linfoma murino. Está presente en las fases activas del ciclo celular (G1, S, G2 y mitosis) y está ausente en las células en reposo (G0). Así pues, dada la sencillez de su determinación inmunohistoquímica, se ha convertido en un marcador de proliferación celular ampliamente utilizado como biomarcador en oncología.

Dado el valor biológico de la proliferación celular en los procesos oncológicos, Ki67 se ha estudiado en múltiples tumores como biomarcador pronóstico y predictivo de respuestas a los tratamientos, siendo ampliamente utilizado en cáncer de mama, aunque presenta una gran variabilidad en su determinación inter e intralaboratorio en cuanto a su valor individual.

Es un factor pronóstico y predictivo, cuyo valor se utiliza frecuentemente como criterio inmunohistoquímico, junto a los receptores hormonales, para la sub-clasificación entre los subtipos tumorales luminal A y B².

1. Determinación y reproductibilidad.

La expresión del Ki67 se evalúa mediante técnicas de inmunohistoquímica¹ mediante un anticuerpo monoclonal, valorándose su expresión por el porcentaje de células coloreadas con tinción nuclear. En la actualidad hay varios anticuerpos en tejido fresco y en parafina para Ki67, siendo los más utilizados el MIB-1 y el MIB-3 en muestras en parafina.

Dada la heterogeneidad en la población celular de un tumor, existe una expresión variable de Ki67 en las diversas áreas del mismo. Se considera el valor de expresión de Ki67, como una medida porcentual de núcleos positivos sobre el número total de células tumorales de los diversos campos de gran aumento observados.

Actualmente, el uso de Ki67 como factor pronóstico o predictivo genera controversia, debido a la falta de consenso sobre los puntos de corte que permitan distinguir un tumor con alta o baja tasa de proliferación, además hay una gran variabilidad entre laboratorios y observadores.

No se ha alcanzado un consenso sobre la definición de baja y alta expresión y cuál es la mejor metodología para la óptima evaluación (sector del tumor a evaluar, puntos calientes, tipos de anticuerpos, clones, etc...).

Como el grado histológico se correlaciona con el Ki67³ la variabilidad para la clasificación de los distintos grados puede disminuirse al correlacionar el Ki67 con el grado histológico^{4,5}. Esta variabilidad ha generado consensos sobre la utilidad al respecto de Ki67⁶. Así, como ejemplo, en general se considera que en caso de un valor Ki67 >25% en un cáncer de mama con un grado histológico I, o un valor de Ki 67 <10% en un cáncer de mama con un grado histológico III es necesario repetir y confirmar el valor de Ki67^{4,5}.

En la **fase pre analítica**, los tiempos y tipo de fijación, la metodología para el archivo de portas, etc... pueden afectar a su detección. Se aceptan como tejidos válidos tanto las biopsias por aguja gruesa como las quirúrgicas y los tissues arrays. La fijación en formol tamponado y los tiempos de fijación son similares a los de receptores hormonales. Los cortes preparados no deberían guardarse a temperatura ambiente más de 14 días. De todos modos, Ki67 es uno de los biomarcadores más estables por inmunohistoquímica, mostrando señales visibles en un gran rango de condiciones de fijación y procesados tanto del tejido como de la inmunotinción.

En la **fase analítica** es importante la recuperación antigénica basada en calor y más frecuentemente con micro-ondas. El clon más usado es MIB-1. El punto más crítico está en la interpretación. La mala reproductibilidad descrita está basada en la falta de consenso sobre qué área debe medirse (por ejemplo: las zonas periféricas de invasión, los **“hot-spots”** o zonas más características, toda la sección tumoral o las áreas de mayor proliferación).

Deben estudiarse al menos 3 campos de gran aumento (con objetivo de 40x), seleccionados para representar el espectro de tinción en el tumor tras

una vista general de la lesión. Para la evaluación pronóstica debe medirse la zona invasiva del tumor. Si hubiera hot-spots estos deben incluirse en el conteo global. Solo debe valorarse la tinción nuclear, independientemente de la intensidad de la tinción. El conteo debe incluir por lo menos 500 células malignas invasivas (preferiblemente 1.000). Los métodos de análisis de imagen pueden servir para su uso en la práctica clínica. En varios ensayos clínicos se ha demostrado que el uso de medidas automatizadas asistidas por medios informáticos, como potencialmente útiles para la evaluación de Ki67 y su correlación clínica⁷.

El valor de Ki67 debe ser expresado como un porcentaje de células positivas entre el número total de células malignas invasivas de las áreas estudiadas.

Los puntos de corte con valor pronóstico, de predicción o con otros intereses de monitorización, deberían solamente aplicarse si los resultados de la propia experiencia de cada hospital han sido validados contra los que externamente se han aceptado como “cut-off” (o puntos de corte) para este marcador.

2. Variabilidad interobservador.

La expresión heterogénea intratumoral dificulta su expresión como un valor único. Ello hace más difícil su determinación, necesiéndose una mayor cuantificación celular, de ahí la proposición de estudios de imagen automatizados. Esta variabilidad plantea dificultades tanto a la hora de estandarizar su metodología como de determinar los puntos de corte.

La incapacidad para definir un valor de corte “óptimo” deriva de la varianza entre las diferencias interobservador y la heterogeneidad intratumoral.

Este problema es de difícil solución, aunque se logre un acuerdo perfecto de observación, la heterogeneidad biológica quedará. El mejor indicador para la validación de Ki67 es el llamado coeficiente de correlación interclase (ICC).

Este parámetro puede alcanzar cualquier valor entre 0 y 1, pudiendo ser interpretado como el porcentaje de varianza que es derivado del propio biomarcador. Por ejemplo, un coeficiente de 0,9 indica que el 90% de la información depende del tumor y el 10% de la variación introducida por el patólogo.

En general, el ICC debería ser tan alto como sea posible para un rendimiento óptimo. En diferentes estudios para mejorar la concordancia de Ki67 se pasó de un 0,71 a un 0,92 sugiriendo que esta mejora es posible tras un entrenamiento sistemático y estandarización de las guías².

3. Punto de corte para distinguir los tumores con alta y baja tasa de proliferación.

Se han definido diferentes estrategias para determinar cut-offs de valor pronóstico^{8,9} y predictivo, basados en meta-análisis de miles de pacientes en que ha quedado establecido que Ki67 es un marcador pronóstico en supervivencia global de pacientes con cáncer de mama.

Globalmente, la mayor parte de los autores coinciden en que el umbral para la división entre baja y alta tasa de proliferación está entre el 10 y el 25% de células que expresan Ki67². Sin embargo, a día de hoy no existe un umbral que se pueda definir como universal y esto es debido, esencialmente, a la falta de coherencia interobservador.

Como norma útil, cada centro debe evaluar, en series de pacientes bien anotadas, cuál es la media de expresión de Ki67 en los distintos grupos tumorales y, o bien correlacionar sus determinaciones con otros valores utilizados internacionalmente, como el grado histológico o con series de otros centros con anotación pronóstica reconocida y validada.

En situaciones especiales como el carcinoma lobulillar infiltrante, por ejemplo, se propone un cut-off del 21% o más para tener significado de mal pronóstico^{2,10}. Sin embargo, no puede alcanzarse un cut-off “óptimo” basado en la evidencia.

4. El valor pronóstico de Ki67 y su utilización aislada o en combinación.

El valor de Ki67 como factor pronóstico puede ser usado como dato independiente o combinado con otros parámetros. Del mismo modo, conviene considerar diferenciadamente el valor pronóstico de Ki67 determinado en la biopsia basal (o en la pieza quirúrgica si la exéresis es la primera maniobra terapéutica), del cambio en Ki67 después de tratamiento sistémico primario.

Analizado aisladamente, en la pieza quirúrgica, varios meta-análisis han mostrado un valor pronóstico independiente de Ki67 para cáncer de mama receptores de estrógenos positivos, HER2 negativo y ganglios axilares negativos¹ y con menor acuerdo también cuando hay ganglios axilares positivos¹¹. Con ganglios positivos hay pocos estudios retrospectivos de ensayos randomizados que favorezcan el uso del valor pronóstico como estadísticamente significativo de Ki67^{12,13}.

Se ha demostrado la utilidad del valor pronóstico de Ki67 después de administrar quimioterapia neoadyuvante. En el ensayo GeparTrio, se observó que un bajo Ki67 después de la quimioterapia tenía un pronóstico similar a los de respuesta completa, mientras que los que mantenían un alto valor de Ki67 tenían una tasa de recidivas y mortalidad significativamente mayor⁷. La disminución de Ki67 está siendo en la actualidad explorada como un primer endpoint en ensayos prequirúrgicos con inhibidores de CDK4/6, como el ensayo Monaleesa-1 (NCT01919229)¹⁴.

El cambio de Ki67 ha sido evaluado extensamente comparando la biopsia basal con biopsias adicionales obtenidas tras una breve exposición a tratamiento antiestrogénico¹. El cambio precoz de Ki67 ha demostrado correlación con la posterior respuesta al tratamiento hormonal e incluso al pronóstico de las pacientes a largo plazo. Sin embargo, la dificultad para estandarizar la medida de la magnitud del cambio de Ki67 en tumores luminales, que ya de base pueden tener expresiones muy bajas de Ki67, junto con la falta de validación prospectiva extensa, han condicionado la falta de uso habitual de este abordaje. A este respecto no se ha visto diferencia en la supresión de Ki67 entre distintos inhibidores de la aromatasas¹².

En combinación con otros parámetros, Ki67 ha sido usado en modelos matemáticos para obtener un valor pronóstico en cáncer de mama. Entre ellos los siguientes:

- ▶ En el llamado índice **PEPI** (Preoperative Endocrine Prognostic Index)¹⁵, Ki67 se usa junto al tamaño patológico, el estado ganglionar patológico, valor de receptores estrogénicos y el grado histológico, para determinar el pronóstico de pacientes que son operadas tras un tratamiento endocrino neoadyuvante. Se construye un score que distingue tres categorías con diferente riesgo de supervivencia por cáncer de mama. Fue validado en el ensayo de neoadyuvancia IMPACT¹⁵. Actualmente está siendo estudiado de manera prospectiva en el ensayo ALTERNATE para identificar pacientes de bajo riesgo después de hormonoterapia neoadyuvante¹⁶.
- ▶ El **RPCB** (Residual Proliferative Cancer Burden)¹⁷ se obtiene aplicando una fórmula que genera una serie de sub-grupos post-terapia uniendo Ki67 con RCB (Residual Cancer Burden) desarrollado por Symmans¹⁸. Tiene valor pronóstico en supervivencia libre de enfermedad, fundamentalmente tras quimioterapia neoadyuvante.
- ▶ **IHC4** es otro test basado en un modelo multivariante que usa información semicuantitativa de 4 datos inmunohistoquímicos: receptores de estrógenos (RE), receptores de progesterona (RP), HER2 y Ki67. Ha demostrado ser tan buen predictor de metástasis a distancia como OncotypeDx[®] en pacientes tratados con hormonoterapia adyuvante en el ensayo ATAC¹⁹, aunque todavía no es reconocido en las guías ASCO²⁰. Recientemente, Engelberg²¹ ha publicado un sistema formativo para patólogos publicado en una página web que permite mejorar la reproductibilidad de IHC4 mejorando su uso clínico.
- ▶ Otro test de combinación es **MS** (ecuación MAGEE <http://path.upmc.edu/onlineTools/ptvr.html>²²), basado en Ki67 junto con valores inmunohistoquímicos de receptores de estrógenos, receptores de progesterona y HER2, más el grado histológico. Puede ser usado contra el score de recidiva de OncotypeDx[®] si el MS estimado es alto o bajo, no así en los intermedios.

5. Ki67 como biomarcador predictivo.

Tal y como es esperable dado el mecanismo de acción de la quimioterapia, íntimamente unido a la proliferación celular, existe una relación entre la expresión de Ki67 y la respuesta a la quimioterapia. Así, pacientes con nivel de expresión elevado de la proteína responden mejor a este tratamiento²⁰.

El valor de Ki67 que se debe considerar como valor umbral predictivo de respuesta genera controversias y no se ha llegado a un acuerdo para su utilización. Adicionalmente, el hecho de que no se haya descrito una capacidad de Ki67 para predecir la respuesta a unos agentes quimioterápicos diferencialmente, ha condicionado que no se haya introducido en la asistencia habitual.

En el tratamiento de quimioterapia neoadyuvante un valor elevado de Ki67 se ve en pacientes que presentan mejor respuesta, siendo predictivo de una mayor tasa de respuesta patológica completa (pCR)^{6,7}, dato que implica un demostrado valor pronóstico. Sin embargo, la relación entre alta proliferación y respuesta no es unívoca existiendo pacientes en progresión que presentan un índice de proliferación más alto que las que no responden^{6,7}, lo que sugiere un efecto no lineal en la respuesta al tratamiento y condicionando el uso del marcador en este escenario⁸.

Hay autores que refieren que un Ki67 elevado es predictivo de una buena respuesta específicamente con algunos agentes como docetaxel^{9,10}, pero en otros estudios no se confirma¹¹.

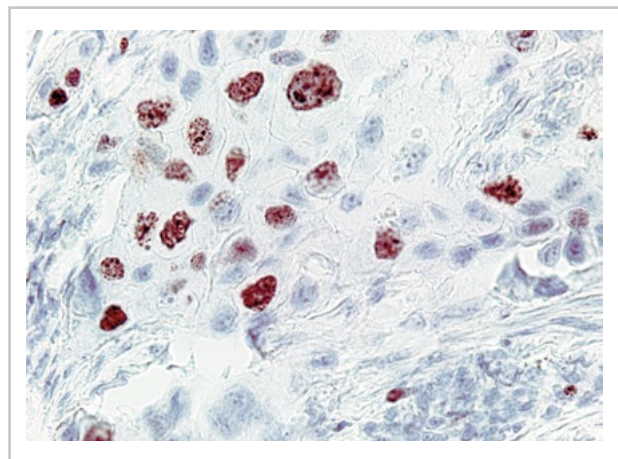
En el campo de la valoración de la sensibilidad al tratamiento hormonal, Ki67 ha demostrado una asociación entre valores altos y falta de sensibilidad al mismo. De hecho, como biomarcador único, y con enormes limitaciones, Ki67 se utiliza frecuentemente para categorizar los subtipos moleculares denominados luminal A y B. Este abordaje es extremadamente reduccionista y ha de considerarse como un marcador altamente imperfecto de una clasificación de expresión génica.

Del mismo modo, el umbral de valor de K67 para diferenciar ambos subgrupos no es homogéneo sufriendo frecuentes revisiones por paneles de expertos^{12,13}.

En los estudios ATAC¹³ y BIG 1-98¹², grandes ensayos clínicos en que se exploraba la utilidad de los inhibidores de la aromatasas como tratamiento hormonal complementario, se consolidó el valor pronóstico de Ki67. Ki67 es un predictor de la respuesta a la quimioterapia neoadyuvante¹⁷, que mejora cuando se valora conjuntamente Ki67 con receptores de estrógeno, receptores de progesterona y amplificación o sobreexpresión de HER2^{23,24}.

📌 Take-Home messages: Ideas a retener.

- Ki67 es una proteína no histona presente en las fases activas del ciclo celular (G1, S, G2 y mitosis) y ausente en células en reposo (G0).
- En la determinación por inmunohistoquímica existe una gran variabilidad entre los laboratorios y entre los observadores. Esta variabilidad puede disminuirse al correlacionar Ki67 con el grado histológico.
- Ki67 puede ser usado como factor pronóstico independiente o combinado con otros parámetros.
- Ki67 es un predictor de la respuesta a la quimioterapia neoadyuvante como dato independiente, o valorado conjuntamente con los receptores de estrógeno, receptores de progesterona y amplificación o sobreexpresión de HER2.



Ki67 (Mib-1). Índice de proliferación celular por técnica de IHQ.

Bibliografía:

1. Polley MY, Leung SC, McShane LM, et al. An international Ki67 reproducibility study. International Ki67 in Breast Cancer Working Group of the Breast International Group and North American Breast Cancer Group. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(24):1897-906.
2. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, et al. Tailoring therapies, improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. *Ann Oncol* 2015;26(8):1533-46.
3. Molino A, Micciolo R, Turazza M, et al. Ki-67 immunostaining in 322 primary breast cancers: Associations with clinical and pathological variables and prognosis. *Int J Cancer* 1997;74(4):433-7.
4. Izquierdo M, Rodriguez I, Tresserra F, et al. How to reduce Ki67 variability jointly evaluating histological grade. *J Clin Oncol* 2015;33(suppl 28S;Abstr 127).
5. M. Izquierdo, F. Tresserra, I. Rodriguez, et al. Reliability of Ki 67 value according to histological grade and hormone status. 14 St. Gallen International Breast Cancer Conference. Vienna 18-21 Marzo 2015. *The Breast* 2015; vol 24, supplement 1, S27.
6. Dowsett M, Nielsen T, A'Hern R et al. Assessment on Ki67 in breast cancer: Recommendations from International Ki67 Breast Cancer Working Group. *J Natl Cancer Res* 2011;103(22):1656-64.
7. Klauschen F, Wienert S, Schmitt WD, et al. Standardized Ki67 diagnostics using automated scoring. Clinical Validation in the GeparTrio Breast Cancer Study. *Clin Cancer Res* 2015;21(16):3651-7.
8. Bustreo S, Osella-Abate S, Cassoni P, et al. Optimal Ki67 cut-off for luminal breast cancer prognostic evaluation: a large case series study with a long-term follow-up. *Breast Cancer Res Treat* 2016;157(2):363-71.
9. Petrelli F, Viale G, Cabiddu M, et al. Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 64,196 patients. *Breast Cancer Res Treat* 2015;153(3):477-91.
10. Carbognin L, Sperduti I, Brunelli M, et al. Subpopulation Treatment Effect Pattern Plot (STEPP) analysis of Ki67 assay according to histology: prognostic relevance for resected early stage 'pure' and 'mixed' lobular breast cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 2016;35:50.
11. Andre F, Arnedos M, Goubar A, et al. Ki67 no evidence for its use in node positive breast cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2015;12(5):296-301.
12. Coates A S, Keshaviah, Thürlmann B, et al. Five years of letrozole compared with tamoxifen as initial adjuvant therapy for postmenopausal women with endocrine responsive early breast cancer: update of study BIG 1-98. *J Clin Oncol* 2007;25(5):486-92.
13. Baum M, Buzdar AU, Cuzick J, et al. Anastrozol alone or in combination with tamoxifen versus tamoxifen alone for adjuvant treatment of postmenopausal women with early breast cancer: first results of the ATAC randomised trial. *Lancet* 2002;359(9324):2131-9.
14. Curigliano G, Gomez-Pardo P, Meric-Bernstam F, et al. Ribociclib plus letrozole in early breast cancer: A presurgical, window of opportunity study. *Breast* 2016;28:191-8.
15. Ellis MJ, Tao Y, Luo J, et al. Outcome prediction of estrogen receptor positive breast cancer based on postneoadjuvant endocrine therapy tumor characteristics. *J Natl Cancer Ins* 2008;100(19):1380-8.
16. Suman VJ, Ellis MJ, Ma CX. The ALTERNATE trial: assessing a biomarker driven strategy for the treatment of postmenopausal women with ER+/HER2- invasive breast cancer. *Chin Clin Oncol* 2015;4(3):34.
17. Sheri A, Smith IE, Johnston SR, et al. Residual proliferative cancer burden to predict long term outcome following neoadjuvant chemotherapy. *Ann Oncol* 2015;26(1):75-80.
18. Symmans WF, Peintinger F, Hatzis C, et al. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 2007;25(28):4414-22.
19. Cuzick J, Dowsett M, Pineda S, 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;29(32):4273-8.
20. Harris LN, Ismailia N, McShane LM, et al. Use of biomarkers to guide decisions on adjuvant systemic therapy for women with early stage invasive breast cancer: American society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J clin Oncol* 2016;34(10):1134-50.
21. Engelberg JA, Retallack H, Balassanian R, et al. Score the Core Web based pathologist training tool improves the accuracy of breast cancer IHC4 scoring. *Hum Pathol* 2015;46(11):1684-704.
22. Klein ME, Dabbs DJ, Shuai Y, et al. Prediction of the OncotypeDx® recurrence score: use of pathology-generated equations derived by linear regression analysis. *Mod Pathol.* 2013;26(5):658-64.
23. Faneyte IF, Schrama JG, Peterse JL et al. Breast cancer response to neoadjuvant chemotherapy: predictive markers and relation with outcome. *Br J Cancer* 2003;88(3):406-12.
24. Izquierdo M, Rodriguez I, Tresserra F, et al. Prediction of neoadjuvant chemotherapy response in breast cancer. *The Breast* 2017;32(1):S79.

► Capítulo 15

p53 y cáncer de mama.

Laura Faez García, María Luque Cabal,
María del Pilar Solís Hernández, Isabel Palacio Vázquez,
Yolanda Fernández Pérez.

1. Introducción.

La proteína p53, codificada por el gen p53, es una fosfoproteína nuclear descrita por primera vez en 1979 durante el estudio de células transformadas por la infección de SV40¹. Estudios posteriores también demostraron su asociación con proteínas de adenovirus y de papiloma virus tipo 16 y 18, cuyo objetivo común en la célula era la mutación de p53^{2,3}.

En 1985, Benchimole identifica el gen que codifica la proteína p53, localizado en el brazo corto del cromosoma 17 (17p13)⁴. En 1989, Nigro et al realizan la secuenciación en muestras tumorales de mama, pulmón, colon y cerebro y determinan que está compuesta por 393 aminoácidos y 3 dominios: un dominio de activación de factores de transcripción, un dominio que reconoce la secuencia específica del ADN (dominio central) y el dominio carboxilo-terminal⁵. Estos resultados suscitaron el interés por el estudio de p53 así como su implicación en la oncogénesis y en la progresión tumoral.

2. p53 en la célula.

El gen p53, clásicamente llamado el “guardián del genoma”, fue el primer gen supresor de tumores identificado y se considera que ejerce una regulación negativa del crecimiento celular. Inicialmente se sugirió que era un oncogén capaz de inmortalizar las células por sí mismo o de transformarlas en conjunción con otros oncogenes. Más tarde se demostró que la forma mutante de p53 era la responsable de la carcinogénesis, mientras que la forma normal o *wild type* inhibe la transformación maligna.

El gen p53 se expresa en todos los tejidos corporales durante el desarrollo. En condiciones normales, los niveles de la proteína en la célula son bajos porque se encuentran asociados a MDM2, lo cual induce su ubiquitinación y rápida destrucción con una corta vida media de 20 minutos, siendo indetectable mediante técnicas inmunohistoquímicas.

En casos de daño del ADN se inhibe su unión a MDM2, lo que produce la acumulación de p53 y un aumento de los niveles celulares siendo su vida media más larga, de unas 24 horas⁶.

Varios estudios sugieren que la proteína p53 es imprescindible en el desarrollo del ciclo celular normal. Su localización en la célula varía durante el ciclo, en la fase G1 se encuentra en el citoplasma pasando al núcleo en la transición G1/S y allí permanece hasta el final de la fase G2/M. La proteína p53 inhibe el paso de G1 a la fase S, por lo que en situaciones de pérdida de su actividad supresora tumoral, se produce una incapacidad para detener dicha transición en el ciclo celular en las células que han acumulado daño en el ADN. En la célula normal se liga al ADN y actúa como un activador transcripcional, mientras que la p53 mutada es un factor regulador negativo dominante formando complejos con la p53 normal y bloquea su función normal. Salvo algunas excepciones, en las células tumorales se encuentra en el núcleo celular⁷.

3. Funciones de p53.

La proteína p53 normal o *wild type* es un factor de transcripción capaz de activar y/o inhibir la transcripción de una amplia variedad de genes que permite preservar la integridad genética de la célula. Entre sus funciones principales está la detención de la división celular en el punto G1/S para dar tiempo a la célula a reparar el daño del ADN, o alternativamente inducir la apoptosis o senescencia celular si la reparación no es posible, evitando así la proliferación de las células que contienen ADN anormal.

Otra función es la activación de enzimas de reparación del ADN para corregir los daños detectados. Interacciona con genes transcripcionales que codifican reductasas, endonucleasas y ADN polimerasas que están implicados en la reparación del ADN. Si el daño es reparado correctamente, p53 estimula la síntesis de MDM2 lo que activa su destrucción y progresión normal del ciclo celular.

En las células tumorales que contienen la proteína p53 mutada, se pierde su capacidad supresora tumoral al no recibir la señal de detención de la división celular ocasionando como resultado un genoma inestable que acumulará mutaciones, dando lugar a clones de mayor malignidad.

Además, la inactivación de su capacidad de inducir apoptosis o muerte celular programada incrementa las células proliferantes y su probabilidad de transformación tumoral.

Por tanto, p53 es un factor de transcripción multifactorial implicado en el control de la progresión del ciclo celular, integridad del ADN y supervivencia de las células expuestas a agentes que dañan al ADN⁸.

4. Mutación de p53 y cáncer.

Las mutaciones del gen p53 están presentes en aproximadamente el 50% de los cánceres. Su prevalencia varía entre los distintos tipos de tumores siendo mayor en los tumores de pulmón, intestinales y gliales, llegando a ser del 80% en algunos subtipos histológicos, como en el cáncer de mama triple negativo o en el carcinoma seroso de alto grado de ovario.

Han sido identificadas más de 4.000 mutaciones distribuidas a lo largo del gen p53, estando el 90% localizadas en el dominio de unión al ADN de la proteína. El 80% de las mutaciones de p53 son de cambio de sentido, por lo que provocan el cambio de un aminoácido por otro, lo que altera la conformación de la proteína y su acumulación en el núcleo celular. Otros cambios consisten en deleciones, inserciones o pérdida de heterocigosidad, aunque no todas las mutaciones son equivalentes, ya que las proteínas mutadas difieren en la extensión de la pérdida de su función supresora y en su capacidad de inhibir la actividad normal de p53⁶.

En los tumores que poseen el gen no mutado, su acción supresora tumoral es reducida o eliminada por otros mecanismos como puede ser la alteración de los ligandos MDM2 o MDM4, cuyo incremento resulta en una disminución de los niveles de p53. Se ha visto una sobreexpresión de MDM2 en tumores específicos de mama, melanoma, gliales (10% de los glioblastomas y astrocitomas) y sarcomas, mientras que MDM4 es frecuentemente sobre expresada en cáncer colorrectal y cáncer de mama. Otro mecanismo de inactivación del gen p53 normal o *wild type* es el ocasionado por la unión a proteínas virales, como la proteína E6 del virus de papiloma humano 16 y 18 que origina el cáncer de cervix⁹.

La proteína p53 mutante no tiene la capacidad de controlar el crecimiento celular, ya que no puede detener el ciclo celular en G1 y pierde su capacidad

de enlazarse al ADN para regular la transcripción. Cuando se produce una pérdida de la actividad supresora p53, las células con ADN dañado sobreviven y proliferan, lo que contribuye a la transformación maligna celular.

Se considera que los cánceres con mutaciones en p53 son más agresivos y con mayor capacidad metastásica. Así, ya en 1994 Lemoine sugería que la mutación de p53 caracteriza un subtipo histológico de cáncer de mama de mayor agresividad y peor pronóstico¹⁰.

5. Síndromes hereditarios.

El síndrome de Li-Fraumeni es una rara enfermedad hereditaria que se transmite de forma autosómica dominante, con una penetrancia del 85% a los 50 años y es debida en la mayoría de los casos a mutaciones de p53.

Es una entidad genética y clínicamente heterogénea que se presenta con un amplio espectro de tumores malignos a edades tempranas, como sarcomas de partes blandas, osteosarcomas, cáncer adrenocortical, tumores cerebrales, leucemia, cáncer de mama en mujeres premenopáusicas y menos frecuentemente melanomas, tumores germinales y digestivos. Se han descrito dos formas, el síndrome de Li-Fraumeni clásico (LF) y Li-Fraumeni Like (LFL). Aproximadamente el 70% del tipo clásico y el 40% de los casos de Li-Fraumeni Like son portadores de mutaciones de línea germinal en el gen p53. En los portadores de la mutación se estima que el riesgo de desarrollar cáncer a los 30 años es del 50% y a los 60 años llega al 90%, siendo más frecuente en mujeres que en hombres. El riesgo de desarrollar un segundo cáncer en estos pacientes también es superior, un 15% aproximadamente, siendo también más frecuentes los cánceres inducidos por radiaciones^{11,12}.

6. p53 y cáncer de mama.

La asociación entre las alteraciones de p53 y la evolución del cáncer de mama ha sido sujeto de numerosas investigaciones. Varios estudios desarrollados desde la década de los 90 ya sugerían el rol pronóstico y la mayor agresividad que las mutaciones de p53 conferirían a este tipo de cáncer. Uno de ellos, el publicado por Allred et al en 1993 analizaba una serie de 700 pacientes con cáncer de mama y ganglios axilares negativos (NO), con una mediana de seguimiento de 54 meses.

Detectó una mutación de p53 por inmunohistoquímica en el 52% de los casos, los cuales se asociaban además a un alto índice de proliferación tumoral, un intervalo libre de enfermedad más corto y una menor supervivencia¹³. Un meta análisis de 16 estudios publicado en 1999 también confirmó la asociación de mutaciones de p53 con peor pronóstico del cáncer de mama y menor supervivencia, tanto en afectación ganglionar positiva como negativa, ocurriendo más del 90% de las mutaciones en los exones 5-8¹⁴.

Otros estudios más recientes, como el publicado por Olivier et al en 2006 y que incluye 1.794 pacientes también observó más mutaciones de p53 en tumores más agresivos, con características de alto grado histológico, afectación ganglionar positiva, mayor tamaño y baja expresión de receptores hormonales. Concluye que las pacientes con mutaciones de p53 tienen mayor riesgo de muerte específica por cáncer de mama aunque dicho riesgo es independiente del tamaño, afectación ganglionar y expresión de receptores hormonales¹⁵.

Diversos estudios de Next Generation Sequencing muestran que las mutaciones somáticas de p53 se encuentran en el 30% de los cánceres de mama aunque la distribución varía según el subtipo tumoral. Así, se ha descrito que p53 está mutado en el 26% de los tumores luminales (17% en luminal A y 41% en luminal B), en el 66% de los tumores apocrinos, en el 50-70% de los HER2 positivos y en el 88% de los carcinomas basal-like. También el tipo de alteración parece diferir según el subtipo histológico, siendo más frecuentes las sustituciones en los carcinomas luminales y deleciones/inserciones en los apocrinos y basal-like¹⁶.

Entre el 5 y el 10% de los cánceres de mama son hereditarios y de ellos el mecanismo más frecuente es la mutación de BRCA1 y BRCA2. Estas pacientes tienen mayor riesgo de sufrir un cáncer de mama y segundos tumores dentro del síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario. Se ha observado mayor frecuencia de mutaciones en p53 en los carcinomas de mama de pacientes con mutación BRCA1 que en BRCA2 o en las no portadoras¹⁷.

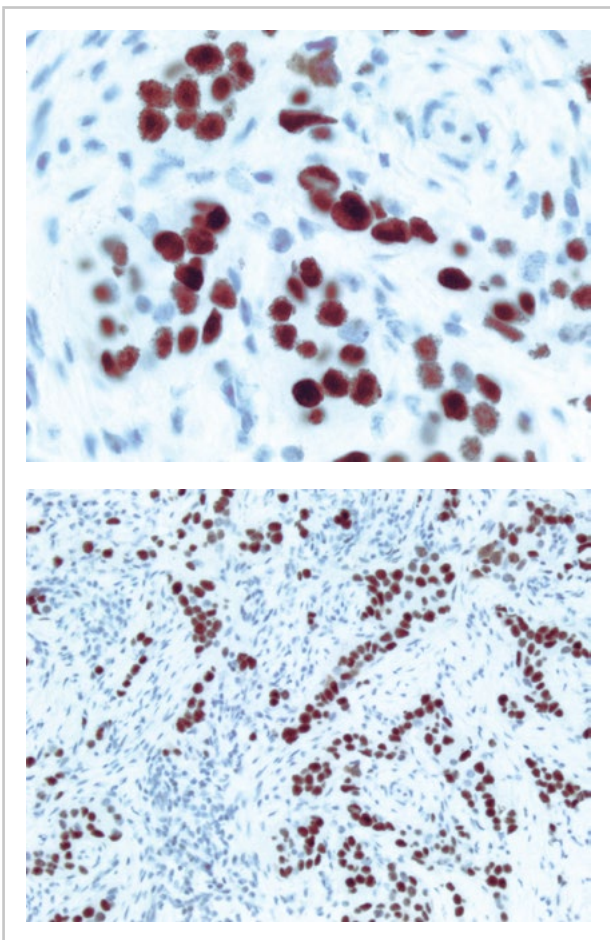
► p53 y la progresión tumoral:

Como hemos dicho anteriormente los tumores de mama más agresivos y de peor pronóstico, en los que frecuentemente encontramos alteraciones de p53, tienen mayor riesgo de metastatizar. En base a esta teoría surgen algunos estudios en los que se determina el estado de p53 en el tumor primario y en las metástasis, cuyos resultados indican que las mutaciones p53 preceden a las metástasis y que la subpoblación de células tumorales que son capaces de dar metástasis albergan dichas alteraciones. Por ejemplo, en uno de ellos realizado en metástasis cerebrales en 23 pacientes con cáncer de mama, se observó mayor frecuencia de alteraciones de p53 y más mutaciones complejas (deleciones/inserciones), sobre todo en los tumores primarios triple negativo. El análisis de casos apareados reveló además una selección clonal y aparición de nuevas mutaciones en las lesiones metastásicas respecto al tumor primario. Estos hallazgos subrayan la importancia de p53 como un regulador de la metástasis implicado además en la adhesión y motilidad celular, invasión e interacciones con la matriz extracelular que influyen en la diseminación tumoral¹⁸.

► Tratamiento del cáncer de mama:

Una cuestión aún pendiente es la posibilidad de emplear p53 para predecir la respuesta a los tratamientos sistémicos, hormonales o citotóxicos. Antiguamente, modelos preclínicos sugerían que los tumores con mutaciones de p53 eran resistentes a las antraciclinas pero parecían sensibles a los taxanos. En base a esta hipótesis, en 2011 se publica un ensayo fase III que randomizaba a las pacientes con diagnóstico de cáncer de mama localizado o localmente avanzado a recibir quimioterapia neoadyuvante con esquema FEC (5-fluorouracilo, epirubicina y ciclofosfamida) o T-ET (docetaxel seguido de epirubicina más docetaxel) incluyendo a 928 pacientes en cada brazo. Como resultado, se confirmó que p53 era un factor pronóstico de supervivencia, pero no se observó mayor sensibilidad a la terapia basada en taxanos. Por tanto, el estatus de p53 en los carcinomas de mama en estos momentos no parece útil para seleccionar un tratamiento citotóxico en concreto¹⁹.

Otro estudio más reciente centraba la hipótesis en los subtipos histológicos triple negativo y HER2 positivo, utilizando las biopsias del ensayo fase II GeparSixto sobre el tratamiento quimioterápico neoadyuvante del cáncer de mama. Se estudió la correlación del estatus de p53 con la respuesta a la quimioterapia, en base a antraciclinas/taxanos con o sin carboplatino, junto con terapias dirigidas (trastuzumab/lapatinib en HER2 positivas y bevacizumab en triple negativas). De nuevo, no se pudo demostrar una asociación entre las mutaciones de p53 y la predicción de respuesta a la quimioterapia aunque sí se observó mayor frecuencia de alteraciones de p53 en los subtipos histológicos triple negativo y HER2 positivo²⁰.



p53 por técnica de IHQ.

☞ Take-Home messages: Ideas a retener.

- El gen p53, clásicamente llamado el “**guardián del genoma humano**”, codifica la proteína p53 y es imprescindible para el correcto funcionamiento del ciclo celular y la reparación del ADN.
- Las mutaciones de p53 se relacionan con la carcinogénesis y la progresión tumoral al ser incapaz de poner en marcha los mecanismos de reparación dando lugar a la acumulación del daño del ADN. Solo en caso de mutaciones, la proteína p53 se acumula en el núcleo celular durante más tiempo siendo posible su detección mediante técnicas inmunohistoquímicas.
- Se ha demostrado la asociación de alteraciones de p53 con diversos tipos de tumores malignos, entre los que se encuentra el cáncer de mama, en los que se detecta hasta el 50% de mutaciones de p53. Además se asocia más frecuentemente con subtipos de mayor agresividad como el triple negativo y HER2 positivo, así como en tumores de mayor índice proliferativo y en pacientes portadoras de la mutación BRCA1, lo que supone peor pronóstico y menor supervivencia.
- La alteración de p53 se considera un factor pronóstico de cáncer de mama, por lo que también se ha estudiado como un posible biomarcador de respuesta a los tratamientos. A pesar de ello, diversos estudios con quimioterapia en base a antraciclinas y taxanos no han demostrado una asociación entre las alteraciones de p53 y la predicción de respuesta, por lo que actualmente no se recomienda su uso para la elección de un tratamiento.

Bibliografía:

- Lane DP, Crawford LV. T antigen is bound to a host protein in SV40 transformed cells. *Nature* 1979;278:261-3.
- Sarnow P, Ho YS, Williams J, et al. Adenovirus E1b-58 kd tumor antigen and SV40 large tumor antigen are physically associated with the same 54 kd cellular protein in transformed cells. *Cell* 1982;28(2):387-94.
- Werness BA, Levine AJ, Howley PM. Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* 1990; 248(4951):76-9.
- Benchimol S, Lamb P, Crawford LV, et al. Transformation associated p53 protein is encoded by a gene on human chromosome 17. *Somat Cell Mol Genet* 1985;11(5):505-10.
- Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC, et al. Mutations in p53 gene occur in diverse human tumor types. *Nature* 1989;342 (6250):705-8.
- López M, Anzola M, Cuevas-Salazar N, et al. P53 un gen supresor tumoral. *Gac Med Bilbao* 2001;98:21-7.
- Quintela Senra D, López Sáez JJB, Senra Varela A. La protenina p53 y el cáncer de mama. Revisión crítica. *Rev Senol Patol Mamar* 2001;14(2):71-7.
- Mitchell RN, Kumar V, Abbas AK, et al. Robbins and Cotran. *Pathologic basis of disease*. 8th ed. En Saunders (Elsevier). 2009. ISBN 978-1-4160-5454-2.
- Duffy MJ, Synnot NC, McGowan PM, et al. P53 as a target for the treatment of cancer. *Cancer Treat Rev* 2014;40(10):1153-60.
- Lemoine NR. *Molecular biology of breast cancer*. *Ann Oncol* 1994;5 suppl 4:31-7.
- Alonso-Cerezo MC; Pérez-Pérez. Síndrome de Li-Fraumeni, *Med Clin (Barc)* 2011;137(9):424-9.
- Guía de manejo del síndrome de Li-Fraumeni. Grupo de trabajo en Cáncer Hereditario de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM).
- Allred DC, Clark GM, Elledge R, et al. Association of p53 protein expression with tumor cell proliferation rate and clinical outcome in node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1993;85(3):200-6.
- Pharoah PD1, Day NE, Caldas C. Somatic mutations in the p53 gene and prognosis in breast cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer* 1999;80(12):1968-73.
- Olivier M, Langerød A, Carrieri P, et al. The clinical value of somatic TP53 gene mutations in 1,794 patients with breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2006;12(4):1157-67.
- Dumay A, Feugeas JP, Wittmer E, et al. Distinct tumor protein p53 mutants in breast cancers subgroups. *Inte J Cancer* 2013;132(5):1227-31.
- Peng L, Xu T, Long T, et al. Association between BRCA status and P53 status in breast cancer: A meta-analysis. *Med Sci Monit.* 2016;22:1939-45.
- Lo Nigro C, Vivenza D, Monteverde M, et al. High frequency of complex TP53 mutations in CNS metastases from breast cancer. *Br J Cancer* 2012;106(2):397-404.
- Bonnefoi H, Piccart M, Bogaerts J, et al. TP53 status for prediction of sensitivity to taxane versus non-taxane neoadjuvant chemotherapy in breast cancer (EORTC 10994/BIG 1-00): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2011;12(6):527-39.
- Darb-Esfahani S, Denkert C, Stenzinger A, et al. Role of TP53 mutations in triple negative and HER2-positive breast cancer treated with neoadjuvant anthracycline/taxane-based chemotherapy. *Oncotarget.* 2016;7(42):67686-98.

► Capítulo 16

Angiogénesis.

Maria del Pilar Solís Hernández, María Luque Cabal, Laura Faez García, Sara Fernández Arrojo, Yolanda Fernández Pérez.

1. Fisiopatogenia.

Los tumores son tejidos complejos que dependen de la intercomunicación entre varios tipos celulares, con la misma complejidad histológica que los tejidos a partir de los cuales se desarrollan.

A menudo los carcinomas dependen fisiológicamente de estas estructuras, lejos de ser organismos totalmente autosuficientes a pesar de sus características de inmortalidad, siendo una de ellas la angiogénesis como se ha descrito en el famoso "Hallmarks of Cancer" de Hanahan y Weinberg¹. **Fig. 16.1**



Figura 16.1. Modificado de "Hallmarks of Cancer" de Weinberg y Hanahan¹.

Igual que los tejidos normales, los tumores requieren sustento en forma de nutrientes y oxígeno, así como necesitan eliminar las sustancias de desecho metabólico y CO₂. El término angiogénesis a menudo hace referencia al proceso de crecimiento vascular, pero en el sentido estricto denota la ramificación a partir de vasos preexistentes.

Folkman y cols. demostraron que los tumores sólidos no pueden crecer más de 2-3 mm sin inducir su propio flujo de sangre. La formación de la vascularización asociada al tumor mediante el proceso de neoangiogénesis es un factor crítico, limitante de la velocidad de crecimiento de los tumores de más de 0.2 mm. El proceso recuerda a la capacidad fisiológica de cicatrización, basándose en la misma expresión de genes².

Esta habilidad está presente en condiciones fisiológicas, así, durante la embriogénesis, el desarrollo de la vascularización comprende la producción de nuevas células endoteliales, su ensamblaje en “tubos” (vasculogénesis) y la ramificación de nuevos vasos desde los preexistentes (angiogénesis). De acuerdo con este proceso, la vascularización normal en gran medida entra en quiescencia, reactivándose temporalmente en procesos fisiológicos como la cicatrización y la menstruación.

La angiogénesis se induce en etapas tempranas del desarrollo del cáncer invasivo. Análisis histológicos de lesiones premalignas y no invasivas (displasias, carcinomas *in situ*) demuestran su presencia precoz³. Los modelos experimentales han revelado que los tumores pueden permanecer *in situ* sin inducir angiogénesis durante largos periodos de tiempo, hasta el momento en el que se produce un cambio de fenotipo en una población de esas células mediante el proceso conocido como interruptor (switch) angiogénico, como resultado del desequilibrio entre los factores inhibidores y proangiogénicos. Durante el desarrollo tumoral el estímulo angiogénico se activa indefinidamente⁴.

La evidencia indica que la activación angiogénica se rige por factores compensatorios que bien inducen o inhiben la angiogénesis (Tabla 16.)^{5,6}.

Algunos de estos reguladores son proteínas de señalización que se unen a receptores de superficie mostrados por células vasculares endoteliales, produciendo reacciones en cascadas activadoras o inhibitorias. Las células endoteliales atraídas por señales proangiogénicas adquieren motilidad, capacidad de invasión y protruyen los filopodios.

Se considera prototipo de inducción e inhibición de angiogénesis al factor de crecimiento del endotelio vascular A (VEGF-A) y a la trombospondina 1 (TSP-1), respectivamente. A nivel bioquímico, esta interdependencia se manifiesta por el intercambio de varios factores mitogénicos y tróficos.

Las células neoplásicas precisan del reclutamiento de células estromales que incluyen fibroblastos, miofibroblastos y macrófagos, así como células que participan en el proceso de construcción vascular asociados al tumor, principalmente células endoteliales, pericitos y leiomiocitos. El reclutamiento de las células que participan directamente en la construcción de la neovasculatura tumoral, implica la liberación de factores quimiotácticos como VEGF, secretados tanto por las células neoplásicas como células inflamatorias.

El factor VEGF-A codifica ligandos involucrados en la organización del crecimiento de nuevos vasos sanguíneos. La señalización de VEGF por medio de tres receptores tirosin-kinasa (VEGFR 1-3) está regulada a múltiples niveles, reflejando la complejidad y redundancia de estos procesos. Por lo tanto, la expresión de los genes de esta vía puede estimularse tanto por hipoxia como por la señalización de oncogenes¹⁻³. A su vez, los ligandos de VEGF pueden ser secuestrados en la matriz extracelular en formas latentes sujetas a liberación y activación mediante proteasas de degradación de la matriz¹⁰.

▸ Factores Proangiogénicos	▸ Factores Antiangiogénicos
<ul style="list-style-type: none"> ▸ Factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) ▸ Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) ▸ Factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) ▸ Factor de crecimiento epidérmico (EGF) ▸ Factor de crecimiento transformante (TGF) ▸ Metaloproteinasas de matriz (MMP) ▸ Factor de necrosis tumoral (TNF) ▸ Angiopoyetinas 	<ul style="list-style-type: none"> ▸ Interferón ▸ Interleucinas ▸ Inhibidores de tejidos de las MMP (TIMP) ▸ Angioestatina ▸ Endostatina

Tabla 16. I. Relación de Inductores/Inhibidores de angiogénesis

Por otra parte, se han involucrado otras señales proangiogénicas en el mantenimiento de la angiogénesis tumoral a través del aumento crónico en su expresión, como son los miembros de la familia del factor de crecimiento fibroblástico (FGF)⁶. Sin embargo, TSP-1 actúa como compensador en el desarrollo de la angiogénesis ya que se une a receptores transmembrana expuestos en la superficie de las células endoteliales y así induce señales supresoras que contrarrestan el estímulo proangiogénico¹¹.

Como cabe esperar, la vascularización intratumoral producto de la activación continua de estímulos asociados a la mezcla desequilibrada de señales proangiogénicas es típicamente aberrante, marcado por las ramificaciones capilares precoces, convoluciones y la excesiva ramificación que dan lugar a vasos distorsionados, flujos turbulentos, microhemorragias, fugas y niveles anormales de proliferación y apoptosis celular.

La finalidad de estos neovasos es transportar nutrientes a los tejidos que consumen energía y por ello los vasos al igual que las señales angiogénicas pueden afectar al metabolismo. En los tejidos metabólicamente activos la absorción de nutrientes está ligada a demanda energética para mantener la homeostasis tisular. De la misma manera el metabolismo propiamente afecta el crecimiento vascular¹². Los sensores y reguladores metabólicos controlan el crecimiento de los vasos, estimulando a menudo la angiogénesis en condiciones de privación de nutrientes, con el fin de preparar el tejido para el metabolismo oxidativo al proveerlo de oxígeno y nutrientes. Dentro de los genes que intervienen en este proceso están PGC1a, LKB1, AMPK, FOXOs y SIRT1.

Por ejemplo, en condiciones de escasez de nutrientes, PGC1a estimula angiogénesis mediante aumento en la expresión de VEGF, de modo que asociado a la biogénesis mitocondrial prepara al tejido isquémico para el metabolismo oxidativo tras la revascularización. Además, un aumento en las concentraciones intracelulares de AMP (reflejo de privación energética), induce angiogénesis por activación de AMPK.

Por ejemplo, el tumor libera factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) para reclutar y activar células estromales, mientras que estas últimas responden liberando factores de crecimiento relacionados con la insulina (IGF) que sustentan a las células tumorales.

2. Angiogénesis como diana terapéutica.

Por todo lo anterior, la neoangiogénesis representa un objetivo atractivo para el desarrollo de agentes antitumorales. Sin embargo, sólo una fracción de los pacientes con cáncer se beneficia de estas aproximaciones, debido a que los tumores desarrollan mecanismos de resistencia o son refractarios a la inhibición de VEGF.

El mecanismo de acción de VEGF incluye la unión al ligando del dominio extracelular del receptor tirosin-quinasa que induce autofosforilación del dominio quinasa intracelular y la posterior cascada de señalización. **Tabla 16.11**

▸ Mecanismos farmacológicos	▸ Ejemplo
1. Anticuerpos monoclonales (AcMc) antiVEGF.	• Bevacizumab, Aflibercept
2. Fármacos diseñados como receptores solubles de VEGF que se unen específicamente al mismo evitando su unión con receptores reales.	
3. Agentes capaces de unirse a los receptores VEGF y actuar como inhibidores.	• Sunitinib, Sorafenib
4. Inhibidores de la vía de transducción de señales de VEGF bloqueando la autofosforilación de receptores de VEGF.	• Temozolomida, Everolimus

Tabla 16. II. Mecanismos de aproximación terapéutica.

3. Angiogénesis y cáncer de mama.

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea. Se clasifica en subtipos moleculares (luminal A, luminal B, HER2 y basal Like) con diferentes características angiogénicas tanto a nivel génico como proteico. Se han explorado varias estrategias antiangiogénicas en el cáncer de mama:

► AntiVEGF:

Utilizando anticuerpos monoclonales que bloquean al ligando. Esta es la aproximación terapéutica antiangiogénica mayormente estudiada. En concreto, bevacizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado que tiene como diana todas las isoformas de VEGF-A, y el único que ha demostrado beneficios estadísticamente significativos en cáncer de mama (Tabla 16.III). Los antagonistas de VEGFR (aflibercept e inhibidores tirosin-kinasa) no han demostrado actividad en este tumor.

Sin embargo, este tipo de tratamiento presenta una incidencia de eventos adversos relacionados a bevacizumab grado 3 (grave), mayor que sus brazos comparativos (aproximadamente un 34% vs. 15-21%): hipertensión arterial, proteinuria, sangrados, eventos tromboembólicos e insuficiencia cardiaca izquierda.

Aproximaciones de este tipo no tienen indicación actual en el tratamiento complementario de las etapas precoces del cáncer de mama, limitándose su uso al contexto metastásico.

► Terapias metronómicas:

Los tratamientos antineoplásicos administrados de forma continuada por largos periodos a bajas dosis (ciclofosfamida, metotrexate, fluoropirimidinas), además de reducir los efectos secundarios, muestran actividad antitumoral e inhibición de la neoangiogénesis¹³.

Estudio	Brazos	N	RP %	P	SLP (meses)	HR (P)	SG (meses)	HR (P)
AVF2119g	Capecitabina + placebo	230	9.1	0.001	4.2	0.98 (0.857)	14.5	No reportado
	Capecitabina + bevacizumab	232	19.8		4.89		15.1	
E2100	Paclitaxel	326	22.2	<0.001	5.8	0.483 (<0.0001)	25.2	0.88 (0.16)
	Paclitaxel + bevacizumab	347	48.9		11.3		26.7	
AVADO	Docetaxel + placebo	241	46.4	0.07	8.1	0.8 (0.045)	31.9	1.05 (0.72)
	Docetaxel + bevacizumab (7.5 mg/kg)	248	55.2		9.0		30.8	
	Docetaxel + bevacizumab (15 mg/kg)	247	64.1	<0.001	10.0	0.67 (<0.001)	30.2	1.03 (0.85)
RIBBON-1	Capecitabina + placebo	206	23.6	0.0097	5.7	0.69 (<0.001)	21.2	0.85 (0.27)
	Capecitabina + bevacizumab	409	35.4		8.6		29.0	
	Antraciclina/taxano + placebo	207	37.9	0.0054	8.0	0.64 (<0.001)	23.8	1.03 (0.83)
	Antraciclina/taxano + bevacizumab	415	51.3		9.2		25.2	
RIBBON-2	Quimioterapia (taxano o gemcitabina o capecitabina o vinorelbina) + placebo	225	29.6	0.0193	5.1	0.78 (0.0072)	16.4	0.90 (0.37)
	Quimioterapia + bevacizumab	459	39.5		7.2			

RP: Tasa de respuestas objetivas. SLP: Supervivencia Libre de Progresión. SG: Supervivencia Global. HR: Hazard Ratio. P: Valor P.

Tabla 16.III. Ensayos clínicos fase III en el contexto metastásico.

☞ Take-Home messages: Ideas a retener.

- La angiogénesis se presenta en condiciones fisiológicas durante el desarrollo embrionario y en la cicatrización.
- Cuando se altera el equilibrio angiogénico y se activan diversas vías de señalización, se produce un crecimiento descontrolado de las células, lo que puede dar lugar a la propagación del cáncer.
- La inducción de la neoangiogénesis por parte del tumor es uno de los procesos fundamentales en el desarrollo del cáncer y está presente desde etapas precoces. La neovasculatura presenta una estructura y funcionalidad aberrante. Es producto del desequilibrio entre estímulos activadores e inhibitorios de diversos factores implicados, tanto desde las células tumorales mediante fenómenos autocrinos y quimiotaxis, como desde las células inflamatorias peritumorales.
- La neoangiogénesis influye sobre el metabolismo del tejido tumoral; y a la inversa, el metabolismo puede influir en la inducción/inhibición de este proceso.
- En el cáncer de mama la aproximación terapéutica antiangiogénica más estudiada es a través de la inhibición de VEGF por el anticuerpo monoclonal bevacizumab, que ha demostrado cierto beneficio en el contexto metastásico para pacientes de alto riesgo y/o triple negativo. Sin embargo, sigue siendo necesario encontrar biomarcadores capaces de predecir qué pacientes presentan más beneficio de este tipo de tratamientos.

☞ Bibliografía:

1. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646-74.
2. Folkman J. Tumour Angiogenesis. Mendelsohn J, Howley PM, Israel MA, Liotta LA, eds. *The Molecular Basis of Cancer*. Philadelphia: WB Saunders, 1995:206-32. ISBN 0-7216-6483-0.
3. Raica M, Cimpean AM, Ribatti D. Angiogenesis in pre-malignant conditions. *Eur J Cancer*. 2009;45(11):1924-34.
4. Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell*. 1996;86(3):353-64.
5. Baeriswyl V, Christofori G. The angiogenic switch in carcinogenesis. *Semin Cancer Biol*. 2009;19(5):329-37.
6. Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer*. 2003;3(6):401-10.
7. Mac Gabhann F, Popel AS. Systems biology of vascular endothelial growth factors. *Microcirculation*. 2008;15(8):715-38.
8. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29(6):789-91.
9. Carmeliet P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. *Oncology*. 2005;69 Suppl 3:4-10.
10. Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell*. 2010;141(1):52-67.
11. Kazerounian S, Yee KO, Lawler J. Thrombospondins in cancer. *Cell Mol Life Sci*. 2008;65(5):700-12.
12. Fraisl P, Mazzone M, Schmidt T, et al. Regulation of angiogenesis by oxygen and metabolism. *Dev Cell*. 2009;16(2):167-79.
13. Munoz R, Shaked Y, Bertolini F, et al. Anti-angiogenic treatment of breast cancer using metronomic low-dose chemotherapy. *Breast*. 2005;14(6):466-79.

► Capítulo 17

Activador del plasminógeno tipo urokinasa (uPA) y su inhibidor tipo 1 (PAI-1) como factores pronósticos y predictivos en cáncer de mama.

Antonio Piñero Madrona, José Neptuno Rodríguez-López, Juan Cabezas Herrera.

La proteasa sérica activadora del plasminógeno tipo urokinasa (uPA) es una enzima de 55 kDa que, mediante su unión específica a un receptor de membrana (uPAR), permite la conversión de plasminógeno a plasmina. Todo este complejo enzimático contribuye a la degradación de gran parte de los componentes de la matriz extracelular a través de la activación de otras proteasas (metaloproteasas), lo que se relaciona con el proceso de invasión tumoral y metástasis¹. La migración celular se ha relacionado con la unión de determinadas moléculas de adhesión, como integrinas o uPAR, con ligandos asociados a la matriz extracelular, como la vitronectina². La interacción de estas moléculas o, por el contrario, la acción de otras con carácter inhibitorio como las serpinas inhibitoras PAI-1 y PAI-2, dirigen o regulan, propiciando o impidiendo respectivamente, esta migración al facilitar o inhibir el anclaje celular a la matriz extracelular³.

Ya desde finales de la década de los ochenta del pasado siglo se han relacionado unos niveles elevados de actividad uPA en tejido tumoral mamario con un incremento en las recurrencias tumorales en cáncer de mama⁴. Concretamente, y dependiendo del papel desempeñado por cada molécula en los procesos de adhesión celular y migración, se han relacionado los altos niveles de uPA, uPAR y PAI-1 con un peor pronóstico, mientras que niveles elevados de PAI-2 se asocian con mejor supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad en pacientes con cáncer de mama⁵.

Tanto los niveles de uPA como los de PAI-1 se consideran de especial utilidad en la valoración del pronóstico de pacientes con cáncer de mama, especialmente cuando no existe afectación ganglionar⁶.

En cuanto a su utilidad predictiva, estudios iniciales apuntaron a que concentraciones elevadas de uPA o PAI-1 se relacionan con baja respuesta a hormonoterapia en enfermedad avanzada recurrente⁷. También se han relacionado altas concentraciones simultáneas de ambos marcadores, uPA y PAI-1, con un efecto beneficioso de la quimioterapia⁸.

En un metaanálisis de 18 series sobre un total de 8377 pacientes, el Grupo para Estudio de Receptores y Biomarcadores de la EORTC, concluye que la determinación de uPA y PAI-1 en el tumor primario puede ser un criterio de selección de terapia sistémica en pacientes sin afectación ganglionar⁹.

Algunos autores, basándose en series retrospectivas, asumen que, puesto que la formación del complejo molecular entre uPA y PAI-1 solo sucede cuando ambas moléculas están en su forma activa, los niveles del complejo uPA:PAI-1 podrían aportar una mejor información pronóstica y predictiva a tratamientos adyuvantes sistémicos¹⁰, lo que fue comprobado posteriormente en estudios prospectivos, sobre todo en los casos de pacientes sin afectación ganglionar¹¹.

Los resultados de un estudio clínico para evaluar la utilidad de uPA/PAI-1 en casos de cáncer de mama sin afectación ganglionar como parte del ensayo fase III NNBC3-European trial, que trata de comparar la adyuvancia con FEC x 6 versus FEC x 3 seguidos de docetaxel x 3, muestran que el uso conjunto de la valoración del grado tumoral con los niveles de uPA/PAI-1 puede evitar la administración de quimioterapia adyuvante hasta en el 39% de las pacientes¹².

Existe una proteína, la SERBP1, que se relaciona con la estabilidad del mRNA de PAI-1 y que, por tanto, parece tener un papel en la regulación de su función a diferentes niveles dentro de los procesos de fibrinólisis, angiogénesis y proceso cicatricial. Además, la sobreexpresión de SERBP1 también se ha detectado en casos de cáncer ovárico con mal pronóstico¹³.

Esto ha llevado a plantear su importancia potencial en el cáncer de mama, encontrándose que, aunque la expresión de SERBP1 no variaba entre tejido mamario normal y tumoral, la expresión nuclear de SERBP1 en los cánceres de mama se relacionaba significativamente con un pronóstico favorable en la supervivencia libre de enfermedad, al contrario de lo que sucede con uPA y PAI-114.

Las pacientes con cáncer de mama que presentan valores determinados por ELISA de uPA menores a 3 ng/mg y de PAI-1 menores a 14 ng/mg, tienen un pronóstico significativamente mejor que aquellas en las que uno o ambos presentan niveles superiores a esas cifras⁸. En este estudio se muestra, en casos con ganglios negativos, que aquellas pacientes que presentan niveles bajos de uPA y PAI-1 presentan buen pronóstico a pesar de no recibir quimioterapia adyuvante, incluso en el seguimiento a 10 años: solo un 10% habían fallecido y un 13% desarrollaron recurrencias o metástasis. De hecho, la supervivencia supera el 90% si se considera la administración de hormonoterapia en pacientes con tumores que expresan receptores hormonales. Por tanto, esto permitiría seleccionar los casos de estadios precoces, sin afectación ganglionar, en los que se podría evitar la administración de quimioterapia¹⁵.

A efectos prácticos, existe un kit comercial para la determinación de estas proteínas (Femtele[®], American Diagnostic Inc. / Sekisui Diagnostics) con marcado CE para su uso clínico en Europa.

También se ha estudiado la posible relación de estos factores pronósticos y predictivos dependiendo de los subtipos moleculares de cáncer, encontrando que existen diferencias significativas, incluso independientemente de que hubiesen recibido tratamiento, en una cohorte específica de 200 casos en los tumores HER2 positivos frente a los perfiles luminal o triple negativo, en los que estas diferencias no se encontraron¹⁶.

Otro aspecto interesante en relación con estos biomarcadores, es que se ha relacionado la expresión elevada de uPA con la progresión tumoral en estadios iniciales del carcinoma invasor de mama y en lesiones consideradas de alto riesgo, como el carcinoma intraductal.

Aunque esto se ha realizado en una serie retrospectiva y con tinción inmunohistoquímica de la lesión (no con determinación sérica de los marcadores), se encuentra que:

- 1/ Existen mayores tasas de expresión de PAI-1 en casos de CIS que en casos de carcinoma invasor, siendo consistente con la hipótesis del papel inhibitor de la invasión tumoral por parte del PAI-1.
- 2/ Existen mayores tasas de expresión de uPA en casos con tumores que presentan metástasis ganglionares que en aquellos que no las tienen.
- 3/ No se llega a demostrar relación con el pronóstico en el caso de los tumores invasivos ni entre aquellos con o sin tratamiento¹⁷.

En su papel pronóstico y predictivo, estos marcadores también se han comparado con las plataformas genómicas OncotypeDx[®] y MammaPrint[®]. Se confirma que en los pacientes pNO, la determinación de uPA/PAI-1 tiene un elevado valor pronóstico para supervivencia libre de enfermedad a 10 años, aunque queda por confirmar su valor predictivo de respuesta a antraciclina. En su comparación con las plataformas, mientras este marcador logra un nivel de evidencia elevado para este valor pronóstico, las plataformas no llegan a alcanzarlo¹⁸.

Las recomendaciones actuales de la American Society of Clinical Oncology (ASCO)¹⁹ sobre el uso de biomarcadores en el manejo del cáncer de mama precoz, considera la utilización de uPA/PAI-1, en casos sin afectación ganglionar con receptores hormonales positivos y HER2 negativo, a la hora de indicar la quimioterapia adyuvante como una medida de alta evidencia científica aunque con recomendación débil. En casos triples negativos o con sobreexpresión de HER2, este marcador no debe utilizarse en la toma de decisiones (evidencia insuficiente, recomendación débil)¹⁹.

Desde el punto de vista de su efectividad se ha propuesto como más útil, para la toma de la decisión de aplicar la quimioterapia adyuvante, en casos de pacientes mayores de 50 años, aunque con una eficiencia (relación coste-beneficio) no establecida²⁰.

☞ Take-Home messages: Ideas a retener.

- La determinación de uPA/PAI-1 puede considerarse un factor pronóstico y predictivo en el cáncer invasor de mama en estadios precoces.
- Su utilidad se circunscribiría a tumores con expresión de receptores hormonales y sin sobreexpresión de HER2 que no presentan afectación ganglionar.
- Como factor pronóstico, unos niveles bajos de estos marcadores implican una mejor supervivencia a 10 años.
- Como factor predictivo, en este grupo de tumores, valores elevados de estos marcadores pueden ayudar a seleccionar la indicación de quimioterapia y evitarla hasta en el 39% de los casos, sin repercusión en la supervivencia.

☒ Bibliografía:

1. Andreassen PA, Kjølner L, Christensen L, et al. The urokinase-type plasminogen activator system in cancer metastasis: a review. *Int J Cancer* 1997;72(1):1-22.
2. Wei Y, Waltz DA, Rao N, et al. Identification of the urokinase receptor as an adhesion receptor for vitronectin. *J Biol Chem* 1994;269(51):32380-8.
3. Kjølner S, Kanse S, Kirkegaard T, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 represses integrin and vitronectin-mediated cell migration independently of its function as an inhibitor of plasminogen activation. *Exp Cell Res* 1997;232(2):420-9.
4. Jänicke F, Schmitt MD, Hafter R, et al. Urokinase-type plasminogen activator (u-PA) antigen is a predictor of early relapse in breast cancer. *Fibrinolysis* 1990;4:69-78.
5. Foekens JA, Peters HA, Look MP, et al. The urokinase system of plasminogen activation and prognosis in 2780 breast cancer patients. *Cancer Res* 2000;60(3):636-43.
6. Duffy MJ. Urokinase plasminogen activator and its inhibitor, PAI-1, as prognostic markers in breast cancer: from pilot to level 1 evidence studies. *Clin Chem* 2002;48(8):1194-7.
7. Foekens JA, Look MP, Peters HA, et al. Urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1: predictors of poor response to tamoxifen therapy in recurrent breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1995;87(10):751-6.
8. Jänicke F, Prechtel A, Thomssen C, et al. Randomized adjuvant chemotherapy trial in high-risk, lymph node-negative breast cancer patients identified by urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1. *J Natl Cancer Inst* 2001;93(12):913-20.
9. Look PM, van Putten WL, Duffy MJ, et al. Pooled analysis of prognostic impact of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 in 8377 breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 2002;94(2):116-28.
10. Sten-Linder M, Seddighzadeh M, Engel G, et al. Prognostic importance of the uPA/PAI-1 complex in breast cancer. *Anticancer Res* 2001;21(4B): 2861-5.
11. Manders P, Tjan-Heijnen VC, Span PN, et al. Complex of urokinase-type plasminogen activator with its type-1 inhibitor predicts poor outcome in 576 patients with lymph node-negative breast carcinoma. *Cancer* 2004;101(3):486-94.
12. Thompson C, Vetter M, Schmidt M, et al. ASCO-recommended prognostic factors uPA/PAI-1 in node negative (NO) breast cancer patients compared to clinicopathological risk assessment within the NNBC 3-Europe trial. *J Clin Oncol* 2009;27:15s (abstract 544).
13. Koensgen D, Mustea A, Klamon I, et al. Expression analysis and RNA localization of PAI-RBP1 (SERBP1) in epithelial ovarian cancer: association with tumor progression. *Gynecol Oncol* 2007;107(2):266-73.
14. Serce NB, Boesl A, Klamon I, et al. Overexpression of SERBP1 (plasminogen activator inhibitor 1 RNA binding protein) in human breast cancer is correlated with favourable prognosis. *Cancer BMC* 2012;12:597-610.
15. Duffy MJ, McGowan PM, Harbeck N, et al. uPA and PAI-1 as biomarkers in breast cancer: validated for clinical use in level-of-evidence-1 studies. *Breast Cancer Res* 2014;16(4):428-38.
16. Witzel I, Milde-Langosch K, Schmidt M, et al. Role of urokinase plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor mRNA expression as prognostic factors in molecular subtypes of breast cancer. *Onco Targets Ther* 2014;7:2205-13.
17. Kim EY, Do SI, Hyun K, et al. High expression of urokinase-type plasminogen activator is associated with lymph node metastasis of invasive ductal carcinoma of the breast. *J Breast Cancer* 2016;19(2):156-62.
18. Luporsi E, Bellocq JP, Barrière J, et al. uPA/PAI-1, OncotypeDx®, MammaPrint®. Valeurs pronostique et prédictive pour une utilité clinique dans la prise en charge du cancer du sein. *Bull Cancer* 2015;102(9):719-29.
19. Harris LN, Ismaila N, McShane LM, et al. Use of biomarkers to guide decisions on adjuvant systemic therapy for women with early-stage invasive breast cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol* 2016;34(10):1134-50.
20. Marguet S, Mazouni C, Ramaekers BL, et al. European cost-effectiveness study of uPA/PAI-1 biomarkers to guide adjuvant chemotherapy decisions in breast cancer. *Eur J Cancer* 2016;63:168-79.

► Capítulo 18

DNA circulante tumoral.

Tomás Pascual Martínez, Aleix Prat Aparicio.

1. Introducción.

El cáncer de mama representa una enfermedad heterogénea con diferentes características biológicas y resultados clínicos. Los recientes avances en tecnologías de secuenciación masiva han permitido la caracterización genómica de genes *drivers* y mutaciones accionables en el cáncer mama, además de establecer una clasificación de los cánceres de mama que integra la genómica y transcriptómica. En la era de la Medicina de Precisión, desentrañar esta heterogeneidad inter e intra-tumoral es primordial para entender la biología de la enfermedad y proporcionar información molecular para adaptar el manejo terapéutico de los pacientes. Los esfuerzos en esta dirección incluyen secuenciación masiva de células individuales y enfoques mínimamente invasivos para caracterizar las mutaciones del cáncer en sangre y otros fluidos biológicos¹.

A pesar de ser la norma en oncología, la obtención de muestras de tejidos tumorales plantea limitaciones, ya que las biopsias tumorales son invasivas, costosas, requieren tiempo y pocas veces son susceptibles de repetición. Existen tres fuentes de ADN tumoral que pueden ser evaluadas de forma no invasiva en la circulación: células tumorales circulantes (CTCs), ADN tumoral circulante libre de células (ctDNA) y exosomas, y todos están siendo estudiados como biopsias líquidas, es decir, sustitutos o biomarcadores complementarios para superar los inconvenientes de las biopsias de tejidos, entre ellos:

- Su realización es mínimamente invasiva, especialmente en comparación con una biopsia de tejido.
- Puede proporcionar una representación completa del tumor (así como de cualquier metástasis clonal).
- Proporcionaría una instantánea personalizada de la enfermedad de la paciente.

La noción de utilizar ADN libre de células (cfDNA) en la circulación como biomarcador sustituto no es un concepto nuevo. Mandel y Metais identificaron la presencia de cfDNA en la sangre de individuos sanos hace casi 60 años², determinaron que el plasma lleva pequeñas cantidades de ADN libre fragmentado de entre 160 y 180 pares de bases, el cual era probable que se originase a través del proceso de necrosis y apoptosis de células^{3,4}. La fracción de ADN libre de células que contiene mutaciones tumorales específicas de un paciente dado se denomina ctADN. Por lo tanto, el ctDNA en plasma constituye una fuente no invasiva de material que puede permitir la caracterización genómica de los tumores.

En el ctDNA de pacientes con cáncer de mama se han detectado variantes únicas de nucleótidos somáticos derivados de tumor (SNVs), alteraciones del número de copias (ANCs) y variantes estructurales (SVs)⁵⁻¹⁰. Por lo tanto, el ctDNA proporciona una nueva técnica para el estudio de los pacientes de cáncer de mama en términos de seguimiento de la carga tumoral, la evaluación de los mecanismos de respuestas terapéuticas y la resistencia, la detección de la enfermedad mínima residual y la comprensión de los desafíos biológicos no resueltos planteados por la heterogeneidad tumoral y la evolución clonal⁹.

2. Caracterización genómica de “biopsias líquidas” en cánceres de mama.

La cantidad de cfADN en plasma parece ser significativamente mayor en pacientes con tumores que en controles sanos, especialmente en aquellos con tumores en estadios avanzados que pacientes con tumores en estadios tempranos^{11,12}. La variabilidad de la cantidad de cfADN es mayor en pacientes con cáncer que en individuos sanos, y la cantidad de cfADN circulante está influenciada por varias condiciones fisiológicas y patológicas, incluidas las enfermedades proinflamatorias.

El análisis de ctDNA es desafiante porque la contribución del tumor al cfADN se diluye en el fondo del ADN libre de células normales, presentando normalmente una proporción del 0-5% del total de ADN circulante. El límite de detección de ctDNA varía según las diferentes técnicas **Fig. 18.1** Véase pág. 130, entre estos se encuentra PCR, PCR digital y tecnologías basadas en la secuenciación masiva paralela.

Además, se han desarrollado métodos rentables y rápidos que muestren el ctDNA plasmático de pacientes sin conocimiento previo sobre la composición genómica de los tejidos tumorales (p. ej. <http://www.guardanthealth.com/>). Esto se consigue al mirar la secuencia de múltiples genes al mismo tiempo. De este modo, los genomas tumorales de pacientes con cáncer de mama puedan ser escaneados de forma no-invasiva.

Método de detección ctDNA	Límite de detección
• Secuenciación Sanger	>10%
• Pirosecuenciación	10%
• Secuenciación de Exoma completo	5%
• Secuenciación de Genoma completo	1%
• PCR alelo específica	0,1%
• Digital PCR	0,01%
• NGS dirigida	<0,01%

Figura 18.1. Métodos de detección de ctDNA y su límite de respectivo.

PCR: Reacción de la cadena de la polimerasa.

NGS: Secuenciación de última generación.

3. Aplicaciones traslacionales y clínicas del ctDNA en el cáncer de mama.

El ctDNA tiene el potencial de caracterizar las mutaciones del cáncer de mama y de monitorizar longitudinalmente estas alteraciones genómicas a lo largo de la historia de la enfermedad^{7,8,10}. Esto permite que la evaluación del ctADN proporcione información sobre:

- Alteraciones genómicas específicas en un momento concreto.
- La evolución de la enfermedad a lo largo de la enfermedad metastásica.
- Los mecanismos de resistencias primarias y secundarias a tratamientos recibidos.
- La detección de la enfermedad residual mínima.
- La heterogeneidad intratumoral.

4. Detección de alteraciones genómicas en pacientes con cáncer de mama.

Un punto clave es que el ctDNA puede ser adecuado para revelar alteraciones genómicas accionables e informar a los procesos de toma de decisiones en la clínica. Los modelos actuales de medicina de precisión adaptan los tratamientos médicos a la complejidad genómica del tumor de cada paciente¹³ **Tabla 18.1** Véase pág. 131. El análisis de las alteraciones genómicas en biopsias de tejido tumoral tiene como objetivo seleccionar y comparar a los pacientes con terapias específicas dirigidas. En este contexto, hay pruebas que demuestran que el plasma puede ser estudiado prospectivamente como una alternativa a las biopsias tumorales en los programas de detección molecular.

Se ha demostrado que el análisis de genomas tumorales incluyendo mutaciones somáticas específicas de tumores, alteraciones del número de copias y variaciones estructurales en ctADN es sensible y específico como una herramienta no invasiva para identificar el retrato genómico de células cancerosas en pacientes con cáncer de mama. En este contexto, varios estudios han correlacionado alteraciones genéticas en muestras pareadas de tejido y de ctADN para confirmar que se puede utilizar como una herramienta de diagnóstico¹⁴.

Esto permitirá que un subgrupo de pacientes de cáncer de mama avanzado sin lesiones metastásicas accesibles puedan tener acceso a terapias personalizadas. De hecho, en el contexto de los ensayos clínicos de fase temprana que usan terapias dirigidas, las alteraciones genómicas derivadas de tumores se han evaluado mediante muestras seriadas de ctADN¹⁵. Las alteraciones genómicas identificadas en ctDNA (por ejemplo, mutaciones PIK3CA o HER2) han permitido la estratificación de pacientes con tumores sólidos, incluyendo aquellos con cánceres de mama, y el acceso a terapias dirigidas contra esa alteración.

Por ejemplo, el ensayo clínico aleatorizado de fase III BELLE-2 diseñado para evaluar la eficacia del inhibidor de PI3K buparlisib en combinación con fulvestrant en pacientes con cáncer de mama cuyos tumores en progresión a los inhibidores de la aromatasa. Para la población total del estudio, los pacientes que recibieron fulvestrant solo tuvieron una supervivencia libre de progresión de cinco meses.

Las que recibieron buparlisib más fulvestrant tuvieron una supervivencia libre de progresión de 6,9 meses (HR 0,78; P <0,001). Las pacientes que tuvieron una mutación en PIK3CA detectada en su ctDNA presentaron resultados mucho mejores si recibieron buparlisib más fulvestrant en comparación con las que recibieron fulvestrant con una supervivencia libre de progresión de siete meses en el grupo buparlisib más fulvestrant versus 3,2 meses en el grupo fulvestrant (HR 0.56 ; Valor P <0,001).

Hay una serie de programas prospectivos que tienen como objetivo personalizar el tratamiento de los cánceres de mama a nivel genómico (SAFIR-01/UNICANCER, IMAGE/SKCCC, AGATA/SOLTI).

Como un ejemplo de esta iniciativa que incluyen biopsias líquidas, los ensayos clínicos en cáncer de mama IMAGE (NCT01939847) o SAFIR-02 (NCT02299999) son ensayos aleatorizados que utilizan el análisis de alteraciones genéticas como una herramienta de decisión terapéutica.

El ensayo incluye pacientes con cánceres de mama metastásicos HER2-negativos (SAFIR02) o triples negativos (IMAGE).

En ambos se realiza una biopsia de una lesión metastásica y se determina secuencialmente, y también se realiza un estudio de ctDNA de forma comparativa al mismo tiempo.

Las pacientes se asignan al azar a un agente molecularmente dirigido que coincide con la alteración genómica detectada o con la quimioterapia a elección del investigador. Se espera que sólo una pequeña proporción de estas pacientes tengan alteraciones genómicas dirigibles. Sin embargo, se prevé que las biopsias líquidas sean relevantes para capturar la colección de alteraciones genómicas de un tumor dado, monitorizar la aparición de clones resistentes al tratamiento a lo largo del tiempo y proporcionar un medio eficaz para personalizar la terapia.

Tipo de cáncer	Alteraciones Genómicas Accionables						
▸ NSCLC	EGFR mt	BRAF mt	ERBB2 mt	ALK fusion	ROS1 fusion	RET fusion	MET amp y delección exon 14
▸ Colorectal	KRAS mt exones 2,3,4	NRAS mt exones 2,3,4	BRAF mt	Inestabilidad de microsatélites			
▸ Mama	ERBB2 (HER2) amp	BRCA1/2 en línea germinal si: › Presentación temprana ≤ 45. › Cáncer de mama triple negativo ≤ 60. › Cáncer de mama en varón. › Historia familiar de cáncer de mama, ovario, páncreas y próstata.					
▸ Gástrico & Esofago-gástrico	ERBB2 (HER2) amp						
▸ Melanoma	BRAF mt	KIT mt					
▸ GIST	KIT mt	PDGFRA mt	BRAF mt				
▸ Ovario	BRCA1/2 línea germinal						

Mt: mutación; amp: amplificación; NSCLC: carcinoma de pulmón no microcítico.

Tabla 18.1. Alteraciones genéticas accionables según guías NCCN.

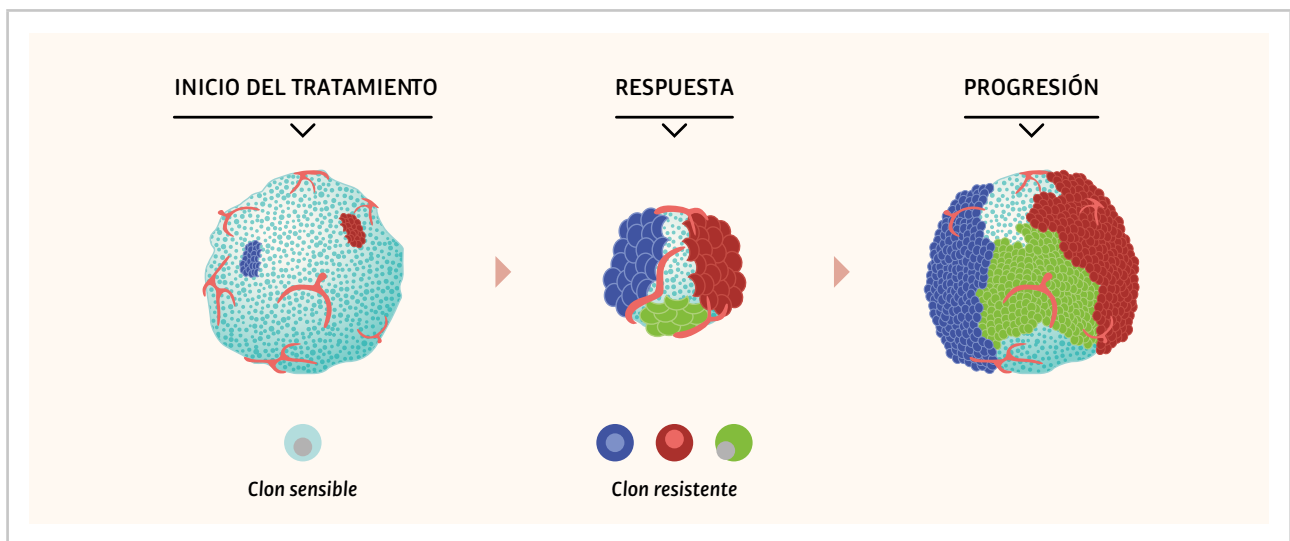


Figura 18.2. Heterogeneidad temporal: Los tumores evolucionan con el tiempo para desarrollar resistencias al tratamiento.

5. La evolución de la enfermedad a lo largo de la enfermedad metastásica.

El ctDNA también proporciona un medio para el análisis longitudinal de los genomas del tumor. Esto incluyó la monitorización de alteraciones genómicas frecuentes en el cáncer de mama (por ejemplo, mutaciones de TP53 y PIK3CA, alteraciones del número de copias, translocaciones) y la aparición de resistencia a las terapias sistémicas^{10,16,17}.

En el cáncer de mama metastásico, un estudio de prueba de concepto demostró que el ctDNA es una herramienta para monitorizar la dinámica de la carga tumoral en pacientes sometidos a terapia sistémica⁷.

Se demostró que la detección de ctDNA utilizando variaciones estructurales y mutaciones de genes TP53 y PIK3CA en los tumores primarios era más sensible y específica que otros marcadores sanguíneos circulantes (es decir, la enumeración de CTC usando el sistema CellSearch aprobado por la FDA y los niveles de CA 15.3) o pruebas radiológicas. Además, la fluctuación en el número de copias de ctDNA se asoció con la respuesta a la terapia y hubo una relación significativa entre el número copias de ctDNA y la evolución de la paciente⁷.

6. Los mecanismos de resistencias primarias y secundarias a tratamientos recibidos.

Un desafío universal en pacientes con cáncer de mama metastásico es la aparición de resistencia a la terapia [Fig. 18.2](#). En el cáncer de mama, más de dos tercios de las pacientes expresan receptores de estrógeno-alfa (ER-alfa, codificado por ESR1, el gen del receptor de estrógeno), y la mayoría de estos casos son sensibles a la inhibición de ER. Sin embargo, la resistencia a la inhibición de los estrógenos se produce invariablemente¹⁸. Las mutaciones en el gen ESR1 se adquieren en aproximadamente el 20% de las pacientes con cáncer de mama tratados con agentes endocrinos y constituyen uno de los mecanismos de resistencia a los inhibidores de la aromatasa^{18,19}. Curiosamente, las mutaciones en ESR1 aparecen en el dominio de unión del ligando (es decir, el estradiol). Estas mutaciones hacen que ESR1 pueda activarse independientemente de la presencia o no del estradiol. Por lo tanto, fármacos que actúen disminuyendo la presencia de estradiol en los tejidos como los inhibidores de aromatasa no deberían funcionar, mientras que fármacos que destruyen el receptor, como el fulvestrant, si deberían ser más efectivos en este contexto.

Las mutaciones de ESR1 pueden ser identificadas de forma robusta en ctADN de pacientes con cáncer de mama metastásico ER-positivo. Dado que la mutación ESR1 en el plasma predice la resistencia a la subsiguiente línea de tratamiento con inhibidores de la aromatasa en pacientes ER-positivos, una posible aplicación de ctDNA es la detección de mutaciones ESR1 antes de que ocurra la progresión de la enfermedad. Esto permitiría un cambio temprano en las opciones terapéuticas, con un beneficio potencial para las pacientes.

Varios trabajos se han publicado recientemente realizando análisis secundarios en muestras de archivos de diferentes ensayos clínicos:

- ▶ El análisis realizado en las muestras del BOLERO-2 demuestra que dos mutaciones ESR1, Y537S y D538G, se relacionan con tumores biológicamente más agresivos y peores resultados en supervivencia. El análisis de ctDNA de 541 pacientes con cáncer de mama metastásico que tuvieron progresión de la enfermedad durante el tratamiento con inhibidores de aromatasa reveló que el 29% de las pacientes (n = 156) tenían una de estas dos mutaciones en el receptor de estrógeno. Estas pacientes tuvieron una mediana de supervivencia general significativamente menor que las pacientes sin una mutación (20,7 meses frente a 32,1 meses)²⁰.
- ▶ Las pacientes en SoFea con mutaciones ESR1 (39,1%, de los cuales el 49,1% eran policlona) presentaban mejor supervivencia libre de progresión (SLP) tratadas con fulvestrant que las que recibieron exemestano, mientras que las pacientes sin mutación en ESR1 tenían SLP similar con ambos tratamientos²¹.
- ▶ En PALOMA-3, las mutaciones ESR1 se encontraron en el plasma de 25,3% de las pacientes, de las cuales 28,6% fueron policlonaes. La adición de palbociclib a fulvestrant mejoraba la SLP en los pacientes en ambos grupos, tanto con mutación de ESR1 como sin ella²¹.

El análisis a escala exoma del ctDNA en diferentes puntos temporales durante el tratamiento permitió la identificación de mutaciones asociadas con la resistencia a fármacos adquirida en cánceres avanzados de mama⁸. Muestras de ctDNA comparadas en diferentes momentos tenían sus fracciones mutantes alélicas. El aumento en la abundancia de las fracciones de alelo en el ctDNA de plasma a lo largo del tiempo podría ser un indicador de presiones selectivas debidas a la terapia, y asociado con la aparición de resistencia. Por ejemplo, una paciente con cáncer de mama HER2-positivo con ER positivo tratado con tamoxifeno y trastuzumab mostró un aumento en los niveles de una mutación del gen MED1, que es un co-activador ER y que se sabe que está implicado en la resistencia al tamoxifeno. Después de la terapia secundaria con lapatinib (es decir, un inhibidor de la tirosina-quinasa anti HER2) más capecitabina, se identificó la mutación del gen GAS6 y se unió a la activación del receptor de tirosina-quinasa AXL, que se sabe que está implicado con resistencia al lapatinib.

Al rastrear la evolución genómica de los tumores en respuesta a la terapia, es posible detectar la aparición de células tumorales resistentes en respuesta a las presiones selectivas de terapias específicas mediante la monitorización del plasma de un paciente para detectar la presencia de mutaciones raras de resistencia subclonal.

7. Evaluación de la enfermedad residual mínima y detección precoz de recurrencia.

En la actualidad, el análisis exhaustivo de los genomas del tumor se facilita cuando el ADN del plasma tiene una alta fracción de ctDNA. Por lo tanto, los datos de secuenciación masivamente paralelos de ctDNA en la enfermedad en estadio temprano (es decir, pacientes con cáncer de mama tratados en los entornos neoadyuvante y adyuvante) son limitados. En pacientes con cáncer de mama no metastásico, una herramienta ideal de “**biopsia líquida**” captaría y monitorizaría los marcadores genómicos de enfermedad mínima residual después de la resección curativa, posiblemente precediendo al desarrollo de recurrencia clínica o radiológica y proporcionando una herramienta para evaluar la latencia tumoral.

Además, una “**biopsia líquida**” ideal clasificaría a las pacientes que están en alto riesgo para la recurrencia y las pacientes bajo riesgo de recidiva, y evitaría las toxicidades de terapias sistémicas innecesarias a éstas. Muy pocos estudios han evaluado el ctDNA en pacientes con cáncer de mama en etapa temprana. Debido a que se han utilizado diferentes técnicas, la capacidad de detectar ctDNA ha variado¹⁷. Recientes trabajos han revelado que ctDNA en el plasma se puede detectar en hasta el 50% de las pacientes de cáncer de mama en etapa temprana^{5,22,23}.

Las mutaciones PIK3CA derivadas de tumores en plasma se identificaron antes y después de la cirugía de mama usando PCR digital²². El ensayo tenía una sensibilidad y especificidad de 90% y 100%, respectivamente, mostrando la viabilidad de detectar mutaciones de ADN en el plasma de pacientes con cáncer de mama en estadio temprano, incluyendo aquellos con enfermedad mínima clínicamente indetectable²². Dos estudios piloto recientes demostraron que la identificación de alteraciones genómicas tumorales en el plasma de pacientes con cáncer de mama no metastásico anticiparon el diagnóstico de recaídas clínicas metastásicas (8 frente a 11 meses)^{17,23}. Dado que la identificación de eventos genómicos asociados con la enfermedad micrometastásica parece ser más sensible que los métodos de imagen, se puede identificar a los pacientes con mayor riesgo de recaída, el muestreo longitudinal de las alteraciones genómicas en el plasma puede crear oportunidades para intervenciones terapéuticas antes del desarrollo de la metástasis clínica. Además, la identificación de alteraciones genómicas segmentables asociadas con resistencia terapéutica primaria o secundaria, ya sea durante las terapias adyuvantes o el seguimiento, pueden en última instancia modular la terapia adyuvante a largo plazo de tales pacientes.

8. Descifrar la heterogeneidad del tumor.

Los cánceres de mama son genómicamente heterogéneos. En la mama, similar a otros tumores sólidos, la colección de alteraciones genómicas encontradas dentro de un tumor puede diferir según la región muestreada, entre el tumor primario y los depósitos metastásicos, e incluso entre depósitos metastásicos distintos¹⁰.

Los análisis genómicos de los cánceres de mama han proporcionado evidencia directa de la heterogeneidad intratumoral espacial y temporal y han demostrado que el rango de subclonal y la heterogeneidad es variable entre los diferentes cánceres de mama.

Actualmente, las decisiones clínicas y terapéuticas se basan generalmente en biopsias individuales que pueden no ser representativas de toda la carga tumoral o no evaluaciones en tiempo real del tejido tumoral. Los objetivos clínicos para la comprensión de la heterogeneidad tumoral consisten en:

- 1/ Caracterizar los cánceres de las pacientes y guiar su tratamiento.
- 2/ Monitorizar la aparición de resistencias a los medicamentos y seleccionar terapias adaptadas.

Sin embargo, estos objetivos no pueden lograrse con el modo actual de análisis de biopsias de tejido tumoral.

El ctDNA representa una fuente evaluable de ADN derivado de tumor para decodificar los genomas de cáncer de manera no invasiva. Dada la imposibilidad del muestreo de múltiples implantes metastásicos viscerales, el ctDNA puede constituir una lectura representativa de la colección de alteraciones genómicas de cada depósito tumoral de una paciente con cáncer de mama metastásico. Hasta hace poco, el grado en que el ctDNA representa la heterogeneidad intra e intertumoral no se ha caracterizado.

Hay algunas pruebas para demostrar que ctDNA de plasma puede reflejar la jerarquía tumoral clonal de los cánceres de mama. Murtaza et al. realizaron un extenso análisis de biopsias secuenciales de tejido tumoral y muestras de ctADN en una paciente con cáncer de mama metastásico ER-positivo/HER2-positivo, incluyendo los múltiples depósitos metastáticos de tumores derivados de una autopsia de la misma paciente²⁴.

Las mutaciones derivadas de tumores tanto en el tejido tumoral como en el plasma identificadas mediante secuenciación se agruparon utilizando un método bioinformático Bayesiano llamado Pyclone. Las mutaciones ubicuas (es decir, presentes en todas las muestras tumorales) tenían los niveles más altos en ctADN seguido de mutaciones presentes en los

depósitos metastásicos analizados y finalmente por mutaciones privadas (es decir, presentes sólo en una de las muestras metastásicas).

Cabe destacar que los grupos de mutación de Piclón basados en plasma reflejaron los depósitos metastásicos tumorales de múltiples regiones sin depender de los datos genómicos del tumor, y también capturaron mutaciones privadas específicas de órganos durante la terapia dirigida. El ctDNA identificó la variedad dinámica de la heterogeneidad tumoral clonal y subclonal. Esto tiene implicaciones importantes para descubrir la heterogeneidad intra- e inter-metastásica y la evolución clonal y para establecer el uso de ctDNA en la clínica.

En el contexto de la evaluación de muestras tumorales multiregionales, se ha comparado el ctADN derivado del plasma con el ctDNA de otros fluidos corporales, en particular el líquido cefalorraquídeo (LCR) como sustituto de las alteraciones genómicas específicas del tumor cerebral. En pacientes con tumores cerebrales primarios, la presencia de ctADN derivado del plasma es mínima probablemente como resultado de la barrera hematoencefálica^{5,10}. Recientemente, el ctADN se ha aislado del LCR de pacientes con tumores cerebrales usando secuenciación masiva paralela²⁵.

ctDNA derivado del LCR caracterizó las alteraciones genómicas de la enfermedad del sistema nervioso central mejor que el plasma tanto en tumores cerebrales primarios como secundarios. En un análisis de subconjuntos de una serie de autopsias de cáncer de mama, las pacientes con enfermedad restringida del sistema nervioso central (es decir, enfermedad extracraneal mínima o ausente), las mutaciones presentes en la metástasis cerebral fueron capturadas por ctADN en LCR y no en plasma. Por el contrario, en pacientes con enfermedad visceral abundante, las mutaciones derivadas de tumores en el LCR y el ctDNA plasmático eran comparables. En particular, el ctDNA derivado del LCR identificó mutaciones privadas específicas de órganos (es decir, mutaciones privadas cerebrales y meníngeas) en un paciente con dos neoplasias concurrentes (es decir, cáncer de mama metastásico y neuroblastoma).

☞ Take-Home messages: Ideas a retener.

- La PCR genómica digital y las tecnologías de secuenciación masiva paralela han permitido la caracterización genómica del tejido tumoral y del ctADN.
- La evaluación del ctADN en pacientes con cáncer de mama, va desde la identificación de alteraciones genómicas accionables, el seguimiento de las respuestas al tratamiento y la aparición de mecanismos de resistencia, hasta la detección de recidiva temprana o progresión.
- Se ha demostrado que el muestreo de la sangre de las pacientes con cáncer de mama recupera información robusta sobre las características genómicas del tumor en los cánceres de mama en estadio temprano y tardío, sin necesidad de una biopsia invasiva.
- Desafíos:
 - › Los cánceres de mama están compuestos de una gran diversidad genómica dentro y entre diferentes tumores, y hay pocos genes de cáncer mutados con frecuencia que impulsan la progresión del cáncer.
 - › No todas las alteraciones genómicas detectadas sirven como biomarcadores predictivos para el tratamiento del cáncer (por ejemplo, amplificación o mutación del gen ERBB2). Actualmente, tales análisis están restringidos a biopsias de tejido tumoral.
 - › Se precisa estandarización y validación de tecnologías entre laboratorios y la incorporación de análisis basados en ctADN en ensayos clínicos y en la práctica clínica habitual.
 - › No todos los pacientes con enfermedad metastásica presentan ctADN en el torrente sanguíneo en cantidades medibles con las tecnologías actuales.

> Los datos preliminares en el cáncer de mama metastásico también han proporcionado pruebas de la asociación de los niveles de ctDNA y el pronóstico. La cuantificación de los niveles de ctDNA para el pronóstico deberá ser validada en cohortes más grandes de pacientes.

> El ctDNA como biopsia líquida tiene un enorme potencial, pero la aplicación clínica habitual precisa estudios rigurosos para demostrar la validez y utilidad clínica.

☐ Bibliografía:

1. Haber DA, Velculescu VE. Blood-based analyses of cancer: circulating tumor cells and circulating tumor DNA. *Cancer Discov.* 2014;4(6):650-61.
2. Mandel P, Metais P. Les acides nucléiques du plasma sanguin chez l'homme. *C R Seances Soc Biol Fil.* 1948;142(3-4):241-3.
3. Diaz LA Jr., Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA. *J Clin Oncol* 2014;32(6):579-86.
4. Mouliere F, Rosenfeld N. Circulating tumor-derived DNA is shorter than somatic DNA in plasma. *Proc Natl Acad Sci USA A.* 2015;112(11):3178-9.
5. Bettegowda C, Sausen M, Leary RJ, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med.* 2014;6(224):224ra24.
6. Dawson SJ, Rosenfeld N, Caldas C. Circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2013;369(1):93-4.
7. Dawson SJ, Tsui DW, Murtaza M, et al. Analysis of circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2013;368(13):1199-209.
8. Murtaza M, Dawson SJ, Tsui DW, et al. Non-invasive analysis of acquired resistance to cancer therapy by sequencing of plasma DNA. *Nature.* 2013;497(7447):108-12.
9. De Mattos-Arruda L, Cortes J, Santarpia L, et al. Circulating tumour cells and cell-free DNA as tools for managing breast cancer. *Nat Rev Clin Oncol.* 2013;10(7):377-89.
10. De Mattos-Arruda L, Weigelt B, Cortes J, et al. Capturing intra-tumor genetic heterogeneity by de novo mutation profiling of circulating cell-free tumor DNA: a proof-of-principle. *Ann Oncol* 2014;25(9):1729-35.
11. Sozzi G, Conte D, Leon M, et al. Quantification of free circulating DNA as a diagnostic marker in lung cancer. *J Clin Oncol* 2003;21(21):3902-8.
12. Shao X, He Y, Ji M, et al. Quantitative analysis of cell-free DNA in ovarian cancer. *Oncol Lett.* 2015;10(6):3478-82.
13. De Mattos-Arruda L, Rodon J. Pilot studies for personalized cancer medicine: focusing on the patient for treatment selection. *Oncologist.* 2013;18(11):1180-8.
14. Higgins MJ, Jelovac D, Barnathan E, et al. Detection of tumor PIK3CA status in metastatic breast cancer using peripheral blood. *Clin Cancer Res* 2012;18(12):3462-9.
15. Frenel JS, Carreira S, Goodall J, et al. Serial Next-Generation Sequencing of Circulating Cell-Free DNA Evaluating Tumor Clone Response To Molecularly Targeted Drug Administration. *Clin Cancer Res.* 2015;21(20):4586-96.
16. Guttery DS, Roques M, Holder AA, Tewari R. Commit and transmit: Molecular players in plasmodium sexual development and zygote differentiation. *Trends Parasitol.* 2015;31(12):676-85.
17. Garcia-Murillas I, Schiavon G, Weigelt B, et al. Mutation tracking in circulating tumor DNA predicts relapse in early breast cancer. *Sci Transl Med.* 2015;7(302):302ra133.
18. Merenbakh-Lamin K, Ben-Baruch N, Yeheskel A, et al. D538G mutation in estrogen receptor-alpha: A novel mechanism for acquired endocrine resistance in breast cancer. *Cancer research.* 2013;73(23):6856-64.
19. Toy W, Shen Y, Won H, et al. ESR1 ligand-binding domain mutations in hormone-resistant breast cancer. *Nat Genet.* 2013;45(12):1439-45.
20. Chandarlapaty S, Chen D, He W, et al. Prevalence of ESR1 Mutations in Cell-Free DNA and Outcomes in Metastatic Breast Cancer: A Secondary Analysis of the BOLERO-2 Clinical Trial. *JAMA Oncol.* 2016;2(10):1310-5.
21. Fribbens C, O'Leary B, Kilburn L, et al. Plasma ESR1 Mutations and the Treatment of Estrogen Receptor-Positive Advanced Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2016;34(25):2961-8.
22. Beaver JA, Jelovac D, Balukrishna S, et al. Detection of cancer DNA in plasma of patients with early-stage breast cancer. *Clin Cancer Res* 2014;20(10):2643-50.
23. Olsson E, Winter C, George A, et al. Serial monitoring of circulating tumor DNA in patients with primary breast cancer for detection of occult metastatic disease. *EMBO Mol Med.* 2015;7(8):1034-47.
24. Murtaza M, Dawson SJ, Pogrebniak K, et al. Multifocal clonal evolution characterized using circulating tumour DNA in a case of metastatic breast cancer. *Nat Commun.* 2015;6:8760.
25. Pan W, Gu W, Nagpal S, et al. Brain tumor mutations detected in cerebral spinal fluid. *Clin Chem.* 2015;61(3):514-22.

► Capítulo 19

Células tumorales circulantes en sangre periférica. Biopsia líquida.

M^a José Serrano Fernández, Alba Rodríguez Martínez,
José Luis García Puche, Jose Expósito Hernández,
Jose A Lorente Acosta.

1. Introducción.

El cáncer de mama es el tumor más frecuentemente diagnosticado en mujeres en países en desarrollo, siendo la metástasis la principal causa de muerte en estas pacientes. Aunque los recientes avances en la detección precoz y en el tratamiento han mejorado sustancialmente el riesgo de muerte por cáncer de mama, aún sigue siendo necesario avanzar en nuevas estrategias para obtener mejoras en el pronóstico de la enfermedad y en el desarrollo de nuevos y más específicos tratamientos. Esta necesidad surge como consecuencia de la gran heterogeneidad del cáncer de mama.

El proceso metastásico implica la colonización de nuevos órganos sin relación anatómica directa con el órgano donde se inicia el tumor. Para que este proceso se inicie es necesario el vertido de células tumorales desde el tumor hacia el sistema sanguíneo o linfático¹. Las células tumorales que se vierten a la sangre desde las masas tumorales, se conocen como Células Tumorales Circulantes (CTCs)¹ y se las considera como el origen de la enfermedad metastásica. La existencia de las CTCs no es algo de reciente descubrimiento, fue John Ashworth, un patólogo australiano, quien ya señaló su existencia². No obstante las limitaciones, principalmente tecnológicas, han sido las responsables del impedimento de su estudio hasta ahora.

El proceso de vertido de estas CTCs hacia el torrente sanguíneo, puede ocurrir desde el inicio del proceso del desarrollo tumoral, no obstante el proceso de extravasación, es un proceso altamente ineficiente, solo unas pocas CTCs tendrán la capacidad de sobrevivir y poder desarrollar una metástasis³. La principal consecuencia de este proceso es que las CTCs pueden desarrollar diferentes características genéticas y fenotípicas, que responden a la necesidad de adaptarse a los diferentes “homings” y microambientes a los que se tendrán que enfrentar, lo cual conlleva la existencia de diferentes subpoblaciones celulares³.

La existencia de diferentes subpoblaciones tiene implicaciones directas en la terapia, siendo aceptado que la persistencia de CTCs después del tratamiento es indicativo de un proceso de resistencia a la terapia administrada³.

Esta revisión tiene como objetivo explicar la necesidad de incorporar la detección y caracterización de CTCs no sólo al estudio del desarrollo tumoral en sí, que nos aporta información biológica esencial para el entendimiento del proceso metastásico, sino también y en un futuro cercano, incorporar estas nuevas metodologías, dentro de la práctica clínica como nuevas herramienta para el seguimiento y tratamiento del paciente oncológico.

2. Implicaciones biológicas de las CTCs en el proceso tumoral.

La metástasis es un proceso complejo que abarca diferentes pasos, que podríamos resumir de la siguiente forma:

- Infiltración local de células tumorales en el tejido adyacente.
- Migración de células tumorales hacia los vasos sanguíneos, proceso conocido como intravasación.
- Supervivencia en el sistema circulatorio.
- Extravasación.
- Proliferación posterior en los órganos competentes que conducen a la colonización⁴.

El proceso metastásico es conocido como un proceso muy ineficiente⁴ porque en esta compleja coreografía se coordinan múltiples eventos que evitan el fracaso del proceso, que de otro modo implicaría la eliminación de las células tumorales emigrantes, en cualquiera de los muchos pasos del camino que recorren⁴. Aunque la diseminación de un tumor primario de 1 cm de tamaño (aproximadamente 1×10^9 células cancerosas) puede infiltrarse en el sistema circulatorio con un millón de células cancerosas por día⁵, la colonización posterior es muy limitada debido a las potenciales incompatibilidades biológicas con los órganos diana. En consecuencia, se piensa que aproximadamente un 0,1% de las células tumorales diseminadas podrían culminar con éxito, el proceso final que sería la metástasis distal⁵.

Por otra parte las células tumorales aisladas o micrometástasis en estado latente, representan poblaciones de células tumorales que permanecen indetectables durante años o décadas⁶, tras los cuales, pueden llegar a formar macrometástasis clínicamente detectables muchos años después del tratamiento contra el cáncer.

Además, uno de los aspectos más problemáticos en la temática del cáncer es el hecho de que la mayoría de ellos permanecen asintomáticos en las primeras etapas y empiezan a aparecer signos sólo en etapas posteriores de desarrollo. Es difícil tratar al paciente en estadios avanzados del cáncer, porque el tumor se propaga en varios tejidos del cuerpo desarrollándose un proceso que termina siendo incompatible con la vida. El fenotipo iniciador de la metástasis aun es desconocido. Es en este contexto donde el estudio de las CTCs puede arrojar luz, puesto que son estas CTCs las responsables de que ocurra la metástasis. Para llegar al final de este proceso con éxito es necesario que estas CTCs pasen por numerosos cambios funcionales y genéticos⁷.

Una célula tumoral maligna no es más que una célula normal que tiene numerosas vías del ciclo celular anormalmente reguladas.

La migración activa de las células tumorales desde el tumor primario a través de vías linfáticas o vasculares, es un requisito indispensable para la formación de metástasis⁸. La regulación de los procesos de migración de células tumorales depende de muchas vías de señalización diferentes, así como de su interacción con componentes de la matriz extracelular. Las citoquinas y los factores de crecimiento, que regulan los receptores de kinasas y sus receptores asociados, juegan un papel importante en la migración de células cancerosas⁹. De hecho, los receptores tirosin-kinasa de la familia ErbB (RTK) incluyen receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), ErbB2, ErbB3 y ErbB4. Recientemente, la señalización de EGFR / ErbB ha estado implicada en el inicio del proceso de Transición Epitelio Mesénquima (de sus siglas en inglés EMT) y migración de células de cáncer⁹.

El factor de crecimiento epidérmico (EGF) se descubrió en 1960, se demostró que era un polipéptido capaz de estimular el crecimiento y la diferenciación celular¹⁰.

Recientemente, se ha identificado el receptor y su actividad de kinasa intrínseca. EGF es capaz de unirse con una alta afinidad a un receptor específico localizado en la membrana celular, y estimular las actividades de kinasa¹⁰.

La migración e invasión de células cancerosas permite que las células tumorales se difundan en sangre periférica, circulen e invadan los tejidos circundantes. La migración celular es un proceso altamente coordinado que implica la regulación precisa del proceso de adhesión celular y la pérdida de adherencia a la matriz extracelular (MEC). Actualmente, el estudio de las CTC como origen de futuras metástasis es un signo importante de mal pronóstico, incluida ya dentro de la guía de Breast Cancer Staging - American Joint Committee on Cancer en su 7ª y 8ª edición^{11,12}.

Bajo circunstancias normales, las células sufrirán apoptosis (muerte celular programada) cuando se separan de su tejido original, un fenómeno conocido como *anoikis*. Sin embargo, en el caso de CTCs este proceso puede ser eludido³. Uno de los procesos celulares biológicos involucrados en la adquisición de la evasión de anoikis es el proceso EMT, caracterizado principalmente por la transformación de células epiteliales altamente diferenciadas, polarizadas y organizadas en células indiferenciadas, aisladas y de tipo mesenquimal con propiedades migratorias e invasivas³. Representa un proceso altamente conservado que ocurre durante la embriogénesis, inflamación crónica y fibrosis, así como durante la progresión del cáncer, refiriéndose a EMT tipo I, tipo II y tipo III, respectivamente³. Tipo III EMT denota un sello distintivo en el carcinoma agresivo y ha sido descrito en el desarrollo del tumor de mama. Curiosamente, la señalización del EGFR también se ha asociado a la proliferación, motilidad, supervivencia y metástasis de las células tumorales, y se sabe que se sobreexpresa en el cáncer de mama, especialmente en los tumores tipo triple negativo¹⁴. Algunos estudios han demostrado, además, que la inhibición de EGFR suprime EMT y en consecuencia, disminuye la migración celular y la capacidad de invasión³.

De hecho, la acción del proceso EMT significa un cambio distinto en el perfil de expresión, caracterizado por la regulación negativa de los marcadores epiteliales, como la E-cadherina y la regulación positiva de los marcadores propios de células mesenquimales, como por ejemplo la N-cadherina o Vimentina y factores de transcripción (familia Snail)³. En este contexto, se han identificado varios mecanismos moleculares como inductores de EMT en células cancerosas, y factores de crecimiento tales como EGFR se han considerado responsables de desencadenar cascadas de señalización a través de sus receptores relacionados.

A lo largo de la adquisición del fenotipo mesenquimal, se puede observar una represión transcripcional de marcadores epiteliales como la E-cadherina, y se acepta que la falta de expresión de E-cadherina está asociada con la adquisición de un fenotipo móvil³. En efecto, los dominios extracelulares de la E-cadherina se unen a las moléculas E-cadherina de la célula epitelial vecina estabilizando, de esta forma, los contactos de célula a célula. Intracelularmente, la E-cadherina se une a B-catenina, A-catenina y p120-catenina que media la señalización intracelular y los enlaces responsables de la unión de adherencia con el citoesqueleto de actina.

La regulación negativa de la E-cadherina por los represores transcripcionales Snail / SNAI1, Slug / SNAI2, SIP1 / ZEB2 o Twist lleva al desmontaje de las uniones de adherencia y la translocación de la B-catenina al núcleo celular, donde modula la transcripción de numerosos genes como c-myc o cyclin D1¹⁵.

La posterior regulación de los marcadores mesenquimales tales como vimentina y (N-cadherina es uno de los signos distintivos del programa EMT³. La expresión de N-cadherina lleva a reordenamientos del citoesqueleto mediante la mediación de las fibras de estrés inducidas por Rho y la formación de lamelópodos y filopodios por Rac1 y Cdc42. Este cambio en la expresión de E- a N-cadherina, conduce a motilidad mejorada de las células transformadas a fenotipo EMT¹⁵. Así, las células que han sufrido EMT pierden su organización epitelial y ganan la capacidad de separarse de los clúster de células epiteliales con el fin de moverse como células mesenquimales (Fig. 19.1). Numerosos factores han sido identificados para inducir EMT incluyendo integrinas, crecimiento de hepatocitos (HGF), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), por ejemplo¹⁶.

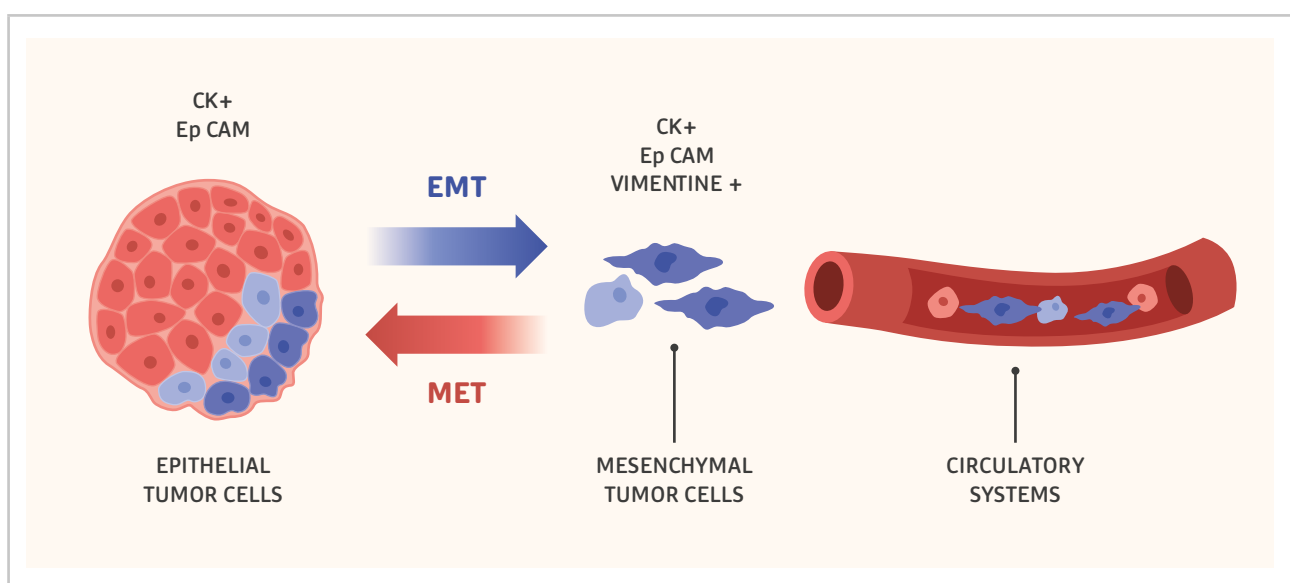


Figura 19.1. Representación gráfica del proceso de transformación epitelio mesenquimal (TEM). Durante el proceso TEM (o EMT de sus siglas en inglés) las células pierden sus características epiteliales a favor de fenotipos mesenquimales, permitiéndoles tener una morfología ameboide que facilita su movilidad. El proceso EMT es reversible.

3. El proceso de diseminación en el cáncer de mama no metastásico.

El cáncer de mama inicial tiene como primera alternativa terapéutica el tratamiento quirúrgico. En algunos casos y a pesar de su completa extirpación, el cáncer de mama tiene la capacidad de reaparecer años después del diagnóstico del tumor primario¹⁷. Este proceso ha sido observado incluso en aquellos pacientes sin afectación ganglionar, lo que ha llevado a la conclusión de que la propagación hematogena es un proceso que puede ocurrir mucho antes incluso de que el tumor primario se vuelve clínicamente detectable¹⁷. Después de la extirpación del tumor primario, la diseminación de las células tumorales conduce a una enfermedad mínima residual (EMR) y por consiguiente, el objetivo de un tratamiento adyuvante exitoso debe ser su completa erradicación. Los principales estudios que apoyan esta teoría, están basados en el análisis de la presencia de células tumorales diseminadas (CTDs) presentes en la médula ósea de pacientes con cáncer de mama primario¹⁸. Así, los estudios de CA Klein, demuestran que la detección de CTDs al diagnóstico y su persistencia durante el tratamiento es un factor de mal pronóstico¹⁸.

No obstante, la detección de CTDs implica un procedimiento invasivo y asociado con una mayor morbilidad, es por esto que se han hecho intentos recientes para implementar métodos menos invasivos. Es aquí donde la detección de CTCs aisladas de sangre periférica intenta ocupar un espacio.

No obstante, los estudios sobre el impacto pronóstico de la detección de CTC son incoherentes, lo que se debe principalmente a diferentes métodos de detección y valores de corte variables para determinar la positividad de las muestras¹⁹.

En la literatura encontramos estudios referenciados al estudio del impacto pronóstico en estas pacientes. Así por ejemplo, en la situación adyuvante, el programa de investigación traslacional de los ensayos alemanes SUCCESS, investigó prospectivamente la relevancia clínica de CTCs en un gran número de pacientes con cáncer de mama primario.

Utilizando el sistema CellSearch (Veridex), el 22% de los pacientes ≥ 1 CTC / 7.5 ml de sangre periférica (SP) en el diagnóstico primario y la detección de CTC, antes de la quimioterapia basada en taxanos, fue un predictor independiente de Supervivencia Libre de Enfermedad (SLE) y de Supervivencia Global (SG)¹⁹.

Resultados similares sobre el impacto pronóstico de los CTCs fueron reportados previamente por otros estudios más pequeños, utilizando también la plataforma CellSearch o técnicas basadas en RT-PCR para la detección de CTC²⁰.

Por otra parte, también se han realizado estudios sobre el valor predictivo de respuesta al tratamiento que puede tener la detección y caracterización de las CTCs. En los pacientes que reciben terapia neoadyuvante, la monitorización de la respuesta del tumor primario permite evaluar el éxito del tratamiento sistémico. Sin embargo, las pacientes pueden sufrir una recaída a pesar de la remisión completa patológica. Esto indica que la respuesta sistémica al tratamiento es independiente de la respuesta de tratamiento local del tumor primario. En consecuencia, el monitoreo de EMR mediante la detección de CTC / DTC durante el tratamiento neoadyuvante ofrece la posibilidad de obtener una mejor visión de la influencia del tratamiento sistémico sobre la diseminación de células tumorales, ayudándonos de esta forma a optimizar las estrategias de tratamiento.

Curiosamente, la mayoría de los estudios indican que la detección de CTC / DTC después del tratamiento sistémico neoadyuvante es independiente de la respuesta del tumor y no se asocia a ninguna características clinicopatológica de cáncer de mama²¹. En este sentido se han realizado varios ensayos clínicos como son el caso de GeparQuattro y GeparQuinto, donde se determina que la prevalencia de la detección de CTCs disminuyó después del tratamiento con quimioterapia neoadyuvante²¹. Mathiesen y cols que evaluaron el estado de CTC / DTC antes y después del tratamiento neoadyuvante, también encontraron que el número de CTC / DTC positivo disminuía tras la quimioterapia neoadyuvante²².

De forma similar, Rack y cols presentaron datos de CTC persistente de los ensayos SUCCESS adyuvantes. La persistencia de ≥ 1 CTC después de la quimioterapia se asoció con disminución de SLE y la persistencia de ≥ 5 CTCs se asoció con disminución de SG¹⁹.

De igual forma, en un estudio similar de R Nadal y cols., se demostró que la capacidad predictiva de la detección de CTCs pasaba por la caracterización de las mismas²³. En este estudio se analizaron 5 biomarcadores en las CTCs, para identificar la potencial existencia de subpoblaciones celulares. El estudio no solo demostró que las CTCs podían presentar diferentes características fenotípicas entre ellas, sino también entre ellas y el tumor primario. La principal conclusión del estudio era que la supervivencia libre de enfermedad dependía no solo de la presencia o número de CTCs detectadas antes o después del tratamiento, sino de las características que estas CTCs presentaban, puesto que eran las características propias de cada subpoblación celular, lo que definía el éxito del tratamiento.

Otros ensayos han investigado la influencia de la terapia dirigida a HER2 en las CTC / DTC. Así, en un estudio intervencionista de Rack y cols, diez pacientes con cáncer de mama primario con DTC persistentes con HER2-positivos recibieron tratamiento con trastuzumab durante 12 meses. El estado del DTC fue entonces revalorizado por el seguimiento en biopsias medulares en intervalos de tiempo regulares. En las pacientes HER2 positivas, las DTCs fueron erradicados en todas. Dos ensayos clínicos aleatorios, DETECT III y TREAT CTC, se han iniciado recientemente para evaluar si las pacientes con CTCs persistentes se benefician de la terapia dirigida a HER2 basada en el estado HER2 de sus CTCs²⁴.

4. El proceso de diseminación en el cáncer de mama metastásico.

La importancia pronóstica de CTCs en el cáncer de mama metastásico se ha demostrado en una serie de ensayos clínicos. El primer estudio realizado analizando el impacto de los CTCs sobre el resultado clínico en esta población de pacientes fue publicado en el 2003 por Gaforio y cols²⁵. En este estudio se analizó una población que contenía pacientes en estadios tempranos y metastásicas, posteriormente estos mismos resultados fueron corroborados por M Cristofanilli con un número mayor de pacientes y en una población homogénea de pacientes metastásicas²⁶. En este estudio prospectivo multicéntrico, las pacientes con cáncer de mama metastásico con al menos cinco CTCs / 7.5 ml de SP tuvieron significativamente menor Supervivencia Libre de Progresión (SLP) y SG en comparación con las pacientes con < 5 CTCs / 7,5 ml (SLP mediana: 2,7 frente a 7 meses y SG: 10,1 frente a 18 meses)²⁵. Por lo tanto, el corte de ≥ 5 CTCs / 7.5 ml SP se utiliza para distinguir entre las pacientes con buen o mal resultado clínico.

Los niveles de CTCs en la misma cohorte de pacientes, tanto por Serrano y cols. como por Cristofanilli y cols. fueron posteriormente evaluados en puntos de tiempo adicionales: antes del inicio del tratamiento, en 3-5, 6-8, 9-15 y 15-20 semanas de seguimiento. Curiosamente, el poder pronóstico del valor de corte de ≥ 5 CTCs / 7.5 ml de SP con respecto a SLP y SG permaneció sin cambios. Además, los autores observaron cambios dinámicos en las CTCs durante el tratamiento. La disminución de los niveles de CTCs durante el tratamiento se asoció con una mejor SLP y SG en comparación con los niveles altos (> 5 CTCs/7.5ml de SP) persistentes de CTCs²⁷.

El valor pronóstico de la detección de CTCs ha sido investigado recientemente con respecto a los subtipos moleculares de cáncer de mama. De acuerdo con Giordano A y cols.²⁸ las CTCs no tienen un impacto predictivo sobre la supervivencia en pacientes con cáncer de mama metastásico HER2 positivo tratados con terapia anti HER2, en contraste con todos los otros subtipos de cáncer de mama. Este efecto podría deberse a la eficacia selectiva de las terapias dirigidas contra CTCs HER2 positivas.

Estos resultados son concordantes con otros estudios prospectivos como los realizados por Pierga y cols.²⁹ donde los autores mostraron una disminución más acusada en los recuentos de CTCs en pacientes que recibieron terapia dirigida (trastuzumab o bevacizumab) además de la quimioterapia de primera línea.

El significado clínico de altos niveles de CTCs en pacientes con cáncer de mama metastásico es independientemente de la ubicación o el número de sitios metastásicos y del estado del receptor hormonal o del estado de HER2 en el tumor. En un estudio retrospectivo de 235 pacientes con cáncer de mama metastásico, realizado por A Giulano y cols.³⁰, se investigó el valor predictivo de los niveles de CTCs para la eficiencia de los diferentes regímenes de tratamiento. Curiosamente, las pacientes con un número de CTCs ≥ 5 mostraron un beneficio marginal de supervivencia con el tratamiento hormonal de primera línea, a pesar del estado positivo de receptores hormonales en el tumor primario o lesiones metastásicas. Las discrepancias fenotípicas entre los tumores primarios y los CTCs podrían ser uno de los posibles factores que limitan la eficacia de los tratamientos, y en este estudio y el de Gaforio y cols.¹⁷, el fallo del tratamiento hormonal.

Por tanto la identificación no solo del número de CTCs, sino también de las características basadas en dianas terapéuticas que puedan estar presentes en estas CTCs, nos ayudarían a realizar cambios en la terapia para una mejor estratificación del tratamiento en estas pacientes.

Take-Home messages: Ideas a retener.

- La identificación de CTCs en pacientes de cáncer de mama, constituye una nueva herramienta para estratificar el riesgo de recaída en estas pacientes.
- La identificación de las características genéticas y fenotípicas de las CTCs nos permitirá identificar qué esquema de tratamiento es el más eficaz para cada paciente, en base no solo a las tipologías biológicas del tumor, sino también en base a las características biológicas presentes en estas CTCs.
- El análisis genético, funcional y epigenético de estas CTCs, nos permitirá el desarrollo de nuevas dianas terapéuticas, basadas en características propias del proceso de diseminación tumoral, responsable del desarrollo de la metástasis. Todo esto constituye el nuevo concepto de “*biopsia líquida*”.

Bibliografía:

- Nadal R, Lorente J, Rosell R, et al. Relevance of molecular characterization of circulating tumor cells in breast cancer in the era of targeted therapies. *Expert Rev Mol Diagn* 2013;13(3):295-307.
- Ashworth T. A case of cancer in which cells similar to those in the tumors were seen in the blood after death. *Aust Med J* 1869;14:146-9.
- Serrano MJ, Ortega FG, Alvarez-Cubero MJ, et al. EMT and EGFR in CTCs cytokeratin negative non-metastatic breast cancer. *Oncotarget*. 2014;5(17):7486-97.
- Van Zijl F, Krupitza G, Mikulits W. Initial steps of metastasis: Cell invasion and endothelial transmigration. *Mutat Res*. 2011;728(1-2):23-34.
- Mack GS, Marshall A. Lost in migration. *Nat. Biotechnol*. 2010;28(3):214-29.
- Aguirre-Ghiso JA. Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy. *Nat Rev Cancer*. 2007;7(11):834-46.
- Nieto MA, Yun-Ju Huang R, Jackson RA, et al. EMT:2016. *Cell* 2016;(166):1:21-45.
- Paduch R. The role of lymphangiogenesis and angiogenesis in tumor metastasis. *Cel Oncol* 2016;39(5):397-410.
- Garay C, Judge G, Lucarelli S, et al. Epidermal growth factor-stimulated Akt phosphorylation requires clathrin or ErbB2 but not receptor endocytosis. *Mol Biol Cell* 2015;26(19):3504-19.
- Cohen S. The epidermal growth factor (EGF). *Cancer* 1983;51(10):1787-91.
- AJCC Cancer Staging Manual, 7th ed Edge, S.B. et al, Springer, 2010.
- AJCC Cancer Staging Manual, 8th ed Amin, M.B et al, Springer, 2017.
- Kalluri R., Weinberg RA. The basics of epithelial–mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009;119(6):1420-8.
- Jang MH, Kim HJ, Kim EJ, et al. Expression of epithelial-mesenchymal transition-related markers in triple-negative breast cancer: ZEB1 as a potential biomarker for poor clinical outcome. *Hum Pathol* 2015;46(9):1267-74.
- Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial–mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014;15(3):178-96.
- Ma L, Young J, Prabhala H, et al. miR-9, a MYC/MYCN-activated microRNA, regulates E-cadherin and cancer metastasis. *Nat Cell Biol* 2010;12(3):247-56.
- Braun S, Vogl FD, Naume B, et al. A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer. *N Engl J Med* 2005;353(8):793-802.
- Koscielny S, Tubiana M. Tumour cell dissemination and growth of metastasis. *Nat Rev Cancer*. 2010;10 (2):156.
- Rack BK et al (2010) Use of circulating tumor cells (CTC) in peripheral blood of breast cancer patients before and after adjuvant chemotherapy to predict risk for relapse: the SUCCESS trial ASCO Annual Meeting 2010 *J Clin Oncol* 28 15s(suppl; abstr 1003).
- Huang X, Gao P, Song Y, et al. Meta-analysis of the prognostic value of circulating tumor cells detected with the CellSearch System in colorectal cancer. *Cancer BMC*. 2015;15:202.
- von Minckwitz G, Rezai M, Loibl S, et al Capecitabine in addition to anthracycline- and taxane-based neoadjuvant treatment in patients with primary breast cancer: phase III GeparQuattro study. *J Clin Oncol* 2010; 28(12) 2015-23.
- Mathiesen RR, Borgen E, Renolen A, et al. Persistence of disseminated tumor cells after neoadjuvant treatment for locally advanced breast cancer predicts poor survival. *Breast Cancer Res* 2012;14(4):R117.
- Nadal R, Fernandez A, Sanchez-Rovira P, et al. Biomarkers characterization of circulating tumour cells in breast cancer patients. *Breast Cancer Res* 2012;14(3):R71.
- Lianidou ES, Mavroudis D, Sotiropoulou G, et al. What's new on circulating tumor cells? A meeting report. *Breast Cancer Res* 2010;12(4):307.
- Gaforio JJ, Serrano MJ, Sanchez-Rovira P, et al. Detection of breast cancer cells in the peripheral blood is positively correlated with estrogen-receptor status and predicts for poor prognosis. *Int J Cancer*. 2003;107(6):984-90.
- Cristofanilli M; Hayes DF, Budd GT, et al. Circulating tumor cells: a novel prognostic factor for newly diagnosed metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2005;23(7):1420-30.
- Serrano MJ, Lorente JA, Delgado Rodríguez M, et al. Circulating tumour cells in peripheral blood: potential impact on breast cancer outcome. *Clin Transl Oncol*. 2011;13(3):204-8.
- Giordano A, Giuliano M, De Larentis M, et al. Circulating tumor cells in immunohistochemical subtypes of metastatic breast cancer: lack of prediction in HER2-positive disease treated with targeted therapy. *Ann Oncol* 2012;23(5):1144-50.
- Pierga JY; Hajage D, Bachelot T, et al. High independent prognostic and predictive value of circulating tumor cells compared with serum tumor markers in a large prospective trial in first-line chemotherapy for metastatic breast cancer patients. *Ann Oncol* 2012;23(3):618-24.
- Giuliano M, Giordano A, Jackson S, et al. Circulating tumor cells as prognostic and predictive markers in metastatic breast cancer patients receiving first-line systemic treatment. *Breast Cancer Res* 2011;13(3):R67.

► Capítulo 20

Micrometástasis medulares.

Fernando Gálvez Montosa, M^a José Serrano Fernández, Marta Legerén Álvarez, José Luis García Puche, Pedro Sánchez Rovira.

1. Introducción.

El cáncer de mama inicial o precoz es una enfermedad en la que a pesar de un tratamiento exitoso del tumor primario pueden producirse recaídas pese a la no evidencia de enfermedad a distancia en un principio, casi siempre determinada por pruebas de imagen. El hecho de que algunas de ellas se produjeran muchos años después del diagnóstico inicial llevó a los investigadores a plantearse si era posible determinar si las células tumorales eran capaces de diseminarse de manera precoz y acantonarse en algunos puntos del organismo de manera silente, para ser así la fuente de las metástasis tardías. A estos elementos se les conoce como células tumorales diseminadas (en adelante, DTCs).

Extrapolando desde el estudio y seguimiento de las neoplasias hematológicas, se descubrió que en la médula ósea de una proporción importante de pacientes con estadios precoces de diferentes tumores, se podían detectar células de estirpe epitelial que no se encontraban en los donantes sanos, las cuales podían caracterizarse como células tumorales, formando lo que se dio a llamar micrometástasis medulares.

Desde entonces, la aparición de nuevos métodos ultrasensibles para la detección, caracterización y análisis de estas células ha permitido comenzar a comprender mejor sus implicaciones clínicas y su papel como factor pronóstico en la historia natural del cáncer de mama.

2. Perspectiva histórica.

El estudio de la médula ósea en el entorno oncológico es una herramienta ampliamente usada, cuyo máximo exponente se encuentra en el abordaje de las neoplasias hematológicas, en las cuales tiene implicaciones pronósticas y terapéuticas. Sin embargo, su papel en los tumores sólidos no está tan bien definido.

Desde que en 1936, Rohr y Hegglin¹ publicaran la primera cohorte de casos en los que se evidenciaba la presencia de células tumorales en la médula ósea de pacientes con cáncer, han sido numerosos los reportes en la literatura de series de pacientes con micrometástasis medulares con diferentes histologías y estadios.

La detección de estas células tumorales se basaba en la aplicación de anticuerpos marcados con radioisótopos contra moléculas como el antígeno carcinoembrionario (CEA), ampliamente extendidas en numerosas poblaciones celulares, no todas ellas tumorales. En 1980, Sloane y cols. publicaron por primera vez la determinación de micrometástasis medulares en cáncer de mama mediante métodos inmunohistoquímicos². Destacaba el desarrollo de anticuerpos contra el antígeno de membrana epitelial (EMA), molécula que se pensaba específica de elementos epiteliales. La aparición de otras dianas como la glicoproteína 12 asociada a cáncer (TAG-12)³, aumentó el conocimiento de esta entidad y permitió la publicación de series de casos con correlación con datos clínicos.

La expresión de EMA en precursores hematopoyéticos y en elementos asociados con neoplasias hematológicas como las células de Reed-Stenberg del linfoma de Hodgkin⁴, hicieron que fuese insuficiente el empleo de anticuerpos anti-EMA para el diagnóstico de DTC de tumores epiteliales.

La utilización de anticuerpos dirigidos contra citoqueratinas, tales como A45-B/B3 o AE1/AE3, fue ganando peso dada su elevada sensibilidad y especificidad, por lo que se constituyó como el método estándar para la detección de células tumorales de origen epitelial en tejidos mesenquimales⁵. En la actualidad, este método no ha perdido vigencia, aunque no hay comparativa directa de las diferentes técnicas disponibles para su detección.

De igual manera, no está claro la magnitud de la repercusión en la práctica clínica diaria.

3. Procedimientos de detección y caracterización de células tumorales en médula ósea.

Dada su escasez, para el aislamiento de células tumorales en médula ósea existen distintos protocolos que emplean técnicas de enriquecimiento. El método más empleado es la técnica de Ficoll. Consiste en un proceso de centrifugación que ordena las células según su gradiente de densidad. Este proceso puede optimizarse mediante el empleo de técnicas de inmunodetección magnética, que utilizan partículas magnéticas recubiertas de anticuerpos contra citoqueratinas⁶. Con estos métodos, es posible detectar células tumorales con una frecuencia aproximada de 1 por cada 10^7 de células nucleadas⁷.

El empleo de anticuerpos anti EpCAM está muy extendido en los métodos de búsqueda de células tumorales circulantes en sangre periférica, no sin plantear la duda razonable de su validez, dado que la expresión de EpCAM en DTC es variable y dependiente del fenotipo tumoral⁸.

Para solucionar esto, hay novedosos métodos como el sistema FAST⁹. Consiste en realizar un escaneado que aplica la misma tecnología que la impresión láser para detectar las DTC que han sido marcadas con anticuerpos fluorescentes. Otra técnica es el sistema EPISPOT, que detecta específicamente aquellas células viables que excretan determinadas proteínas¹⁰. No obstante, son métodos cuya utilidad clínica está pendiente de ser testada en grandes ensayos clínicos, con el número suficiente de pacientes que garantice la validez externa.

Otro abordaje para el análisis de las DTC es el empleo de técnicas basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), especialmente el análisis cuantitativo en tiempo real. La falta de dianas propias de las células tumorales y la variabilidad en su expresión inter e intracelulares fruto de la heterogeneidad tumoral han sido sus principales limitaciones. La aplicación de mRNA, así como el empleo de técnicas multidianas¹¹ (CEA, MUC-1, KRT-19, etc.) han permitido sortear estas limitaciones, aunque estas técnicas se han aplicado preferentemente en el análisis de células tumorales circulantes (en adelante, CTC) en sangre periférica, por lo que su papel en el estudio de las DTC está por refrendar en ensayos clínicos.

Pero, *¿cómo podemos estar seguros de que estas células son verdaderamente células tumorales?* Para conseguir una respuesta firme, fue preciso esperar al desarrollo de técnicas de identificación de alteraciones genéticas en células aisladas. Los avances de la tecnología ya permiten utilizar y secuenciar todo el genoma. Esto, unido a la sofisticación de los procesos de hibridación, se ha empleado para establecer comparaciones entre diferentes poblaciones celulares, y ha permitido el descubrimiento de que todas las células con expresión de citoqueratinas expresaban cambios genéticos que las identificaban como células tumorales, a la vez que estas células no se encontraban en las muestras de los donantes sanos¹².

Para explicar el racional del hallazgo de las DTC se plantean dos teorías. Por un lado, la **“teoría de la progresión paralela”** postula que las células tumorales migraron desde el tumor primario de manera temprana, resultando una población tumoral independiente que al estar expuesta a un microambiente distinto, tendría una evolución diferente¹³.

Por otro lado, el **“modelo lineal”** se basa en que las células presentan mutaciones que conllevan ganancia de función, hasta que un clon adquiere capacidad para diseminarse a otros tejidos.

En el caso del cáncer de mama precoz, las alteraciones genéticas encontradas en las DTC suelen ser diferentes a las de las células del tumor primario, lo que apoya la teoría de la evolución paralela¹⁴. Sin embargo, existen datos publicados de que las DTC aisladas de pacientes con cáncer de mama metastásico presentan alteraciones genéticas similares a las del tumor primario y a las de las células tumorales de los ganglios axilares, apoyando la hipótesis del modelo lineal¹⁵.

Estos modelos que en un principio podrían parecer contradictorios, probablemente sean complementarios a la luz de los resultados de estos estudios.

Los tumores se originan en base a una célula que adquiere la capacidad de replicarse de manera indefinida, elemento que se denomina célula madre tumoral (CSC). Un tumor en fase incipiente de su desarrollo está compuesto en su mayor parte por CSC. Cuando el tumor adquiere un volumen determinado, es necesario que algunas de estas células pierdan parte de esa capacidad para diferenciarse en otros elementos

que permitan el transporte de nutrientes, den sostén a la estructura tumoral o establezcan funciones de relación. Si pensamos que las DTC son el resultado de una diseminación temprana, es más probable que expresen un fenotipo más parecido al de las CSC.

Balic y cols.¹⁶, publicaron por primera vez que las DTC de cáncer de mama suelen expresar un fenotipo similar al de las células madre tumorales, una población generalmente muy pequeña en los tumores avanzados. Su perfil suele ser Ki-67 negativo, CD 44 positivo y una expresión muy baja de CD24, hallazgos todos ellos encontrados habitualmente en las DTC del cáncer de mama. Estudios posteriores han permitido correlacionar otros marcadores de células madre tumorales con las DTC como ALDH1 o BMI1. Además, los cultivos celulares de estas DTC son capaces de producir una respuesta proliferativa en presencia de factores de crecimiento asociados con el crecimiento de las células madre tumorales como el factor de crecimiento fibroblástico (FGF) o el factor de crecimiento epidérmico (EGF)¹⁷.

Por tanto, las DTC suelen tener un comportamiento quiescente lo que confiere resistencia a la quimioterapia.

Este estado de latencia se conoce como “**dormancia celular**” y es uno de los puntos claves para explicar por qué pueden producirse recidivas tumorales muchos años después del fin del tratamiento del tumor primario y constituyendo un gran campo de investigación en la actualidad.

4. Implicaciones pronósticas y terapéuticas de las DTC.

Se estima que pueden detectarse DTC hasta en el 30% de las pacientes con cáncer de mama. Su papel pronóstico se ha establecido en numerosas publicaciones. Su presencia en el momento de la resección del primario se ha asociado con un peor pronóstico en el cáncer de próstata, pulmón y del tracto digestivo, pero es en el cáncer de mama donde los datos son más robustos.

El análisis conjunto de la experiencia de 13 centros y más de 4.700 pacientes publicado por Braun y cols.¹⁸, concluye que la detección de DTC en pacientes con cáncer de mama en estadios precoces implica un peor pronóstico con menor intervalo libre de progresión y menor supervivencia global. **Fig. 20.1**

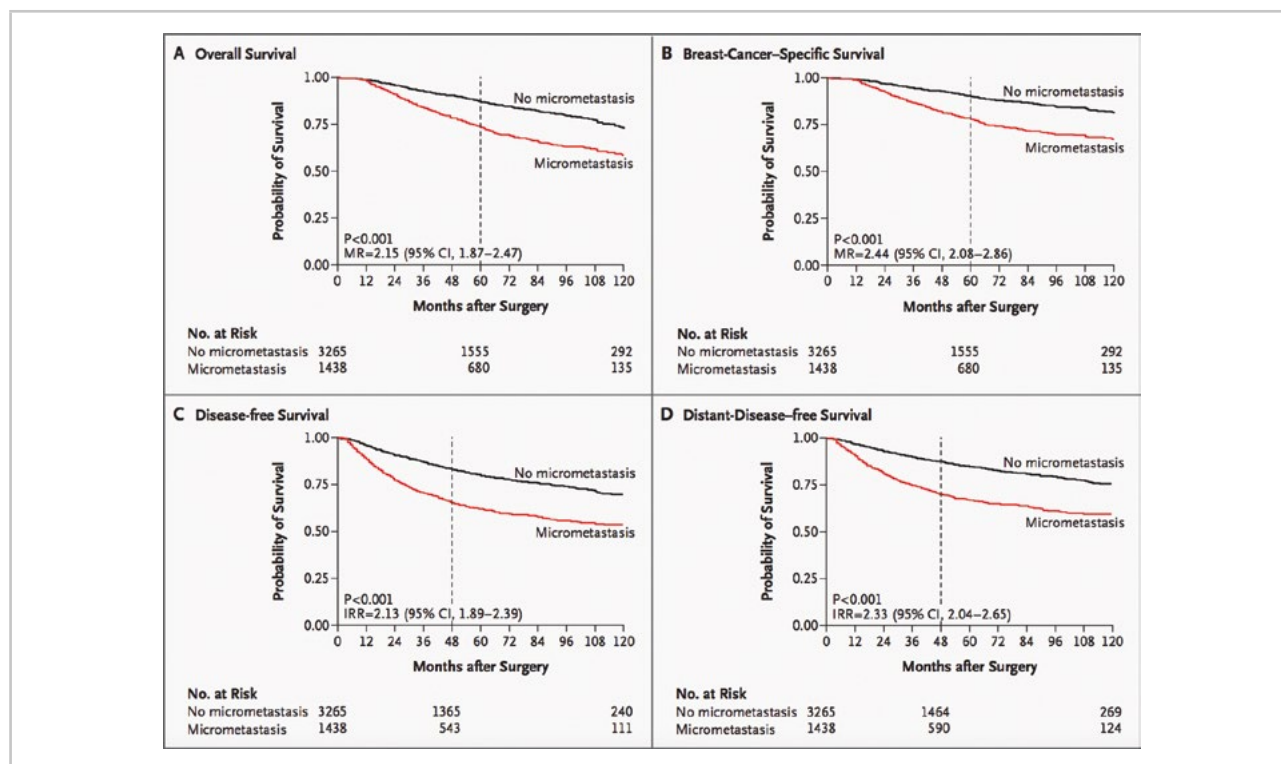


Figura 20.1. Curvas de supervivencia en función de la presencia o no de DTC en el momento de la cirugía del primario en pacientes con cáncer de mama precoz. Modificado de Braun y cols.¹⁸

Además, encuentran asociación significativa con los tumores de alto grado, con el tamaño tumoral, la presencia de ganglios axilares afectos y la baja expresión de receptores hormonales, así como con la aparición de metástasis viscerales y no sólo con las óseas.

La serie de casos publicada por Mansi y cols.¹⁹ con una mediana de seguimiento de 30 años encuentra correlación entre la presencia de DTC en médula ósea y una peor supervivencia global, especialmente en las pacientes menores de 50 años en el momento de la cirugía. También presenta evidencia para la asociación del tamaño tumoral y la afectación ganglionar.

A la luz de estos resultados, la presencia de CTC y/o DTC fue incluida en la séptima edición del manual de estadificación del cáncer de la AJCC, estableciendo la presencia de células en médula ósea, sangre periférica u otros tejidos (como en los ovarios intervenidos de manera profiláctica) detectadas accidentalmente y con un tamaño menor a 0.2 mm como una subclasificación dentro del MO denominada MOi+^{20,21}.

La evaluación de la médula ósea es una técnica invasiva, molesta para la paciente y técnicamente más compleja de realizar y repetir que la extracción de sangre periférica. Estos son, probablemente, los motivos por los que hay una mayor cantidad de estudios y proyectos con las CTC.

Los pocos estudios que han evaluado tanto la afectación de sangre periférica como de médula ósea, han reportado que la significación pronóstica de las DTC es superior a la de las CTC. No todas las series de datos establecen asociación significativa entre los niveles de DTC y CTC, y en muchas de ellas, los métodos de análisis de las CTC no eran los más avanzados²².

Adicionalmente a su papel pronóstico, la monitorización de la carga tumoral en la médula ósea en el cáncer de mama precoz, se ha establecido como una herramienta de evaluación de la enfermedad mínima residual. El estudio de Braun y cols., establece que en aquellos pacientes con cáncer de mama precoz de alto riesgo, con detección inicial positiva de DTC en médula ósea que tras recibir tratamiento adyuvante seguían presentando DTC, presentan peor pronóstico respecto de aquellos que las negativizaban²³.

La determinación de la sobreexpresión HER2 ha definido una nueva población de pacientes gracias al desarrollo de un tratamiento antidiaria específico. Sin embargo, hay cierto grado de discrepancia entre la sobreexpresión en el tumor y en las DTC, pudiendo encontrarse en DTC cuyos tumores primarios eran negativos y viceversa²⁴. En general, la expresión de HER2 en las DTC se ha reportado con más frecuencia que la de los tumores primarios. Adicionalmente, se ha demostrado que quimioquinas implicadas en la diseminación celular, y especialmente con la afectación de la médula ósea, como CXCR4, tienen estrecha relación con el proceso de desarrollo de metástasis en los tumores HER2 positivos, lo que puede ayudar a explicar este hecho²⁵.

Este hecho plantea una nueva visión de la enfermedad HER2 positiva, ya que podría asumirse que aquellos tumores HER2 negativos en la mama y HER2 positivos en médula ósea podrían beneficiarse de tratamiento con fármacos anti HER2. Para arrojar luz sobre esta situación, hay en marcha ensayos clínicos (NCT01779050, NCT00949247) que randomizan los brazos en función de los hallazgos en médula ósea.

Uno de los motivos que se han investigado sobre la discrepancia en la magnitud del valor pronóstico de las DTC es la influencia de la toma de bifosfonatos. Hay reportes en la literatura de que aquellos pacientes DTC + en tratamiento con bifosfonatos tienen un pronóstico similar a los DTC -. La administración de bifosfonatos podría provocar cambios en el microambiente celular de la médula ósea que dificultasen la viabilidad de las DTC. Estas, al tener una tasa de replicación muy baja, acabarían por reducir su número²⁶. No obstante, el estudio AZURE con más de 3.000 pacientes con cáncer de mama precoz, evaluó la adición de ácido zoledrónico al esquema de adyuvancia estándar elegido, no demostrando ninguna ventaja en supervivencia global, aunque sí que se observó una reducción del desarrollo de metástasis óseas²⁷.

☞ Take-Home messages: Ideas a retener.

- Las micrometástasis medulares son un hallazgo frecuente en el cáncer de mama precoz. En líneas generales, podemos considerar suficiente la evidencia para considerarlas un factor pronóstico negativo, ya que confieren intervalos libres de enfermedad más cortos no sólo en cuanto a la aparición de enfermedad ósea, sino también a nivel visceral.
- La heterogeneidad metodológica y la falta de coordinación entre organismos ha supuesto la aparición de numerosas publicaciones. Son pocos los datos de grandes ensayos clínicos prospectivos y aleatorizados que establezcan el verdadero impacto pronóstico de esta entidad y sus posibles aplicaciones en la toma de decisiones para el tratamiento del cáncer de mama en un futuro próximo.

📖 Bibliografía:

1. Rohr K, Heggin R. Tumorzellen im sternalpunktat. Metastasen nachweis maligner Geschwülste im Knochenmark. Deutsches Arch Klin Med. 1936;179:61.
2. Sloane JP, Omerod MG, Neville AM. Potential pathological application of immunocytochemical methods to the detection of micrometastases. Cancer Res 1980;40(8):3079-82.
3. Harbeck N, Untch M, Pache L, et al. Tumour cell detection in the bone marrow of breast cancer patients at primary therapy: results of a 3-year median follow-up. Br J Cancer 1994;69(3):566-71.
4. Delsol G, Gatter KC, Stein H, et al. Human lymphoid cells express epithelial membrane antigen: implications for diagnosis of human neoplasms. Lancet 1984;2(8412):1124-9.
5. Fehm T, Braun S, Muller V, et al. A concept for the standardized detection of disseminated tumor cells in bone marrow from patients with primary breast cancer and its clinical implementation. Cancer 2006;107(5):885-92.
6. Zieglschmid V, Hollmann C, Gutierrez B, et al. Combination of immunomagnetic enrichment with multiplex RT-PCR analysis for the detection of disseminated tumor cells. Anticancer Res. 2005;25(3A):1803-10.
7. Banys M, Krawczyk N, Fehm T. The role and clinical relevance of disseminated tumor cells in breast cancer. Cancer (Basel). 2014;6(1):143-52.
8. Braun S, Hepp F, Sommer HL, et al. Tumor antigen heterogeneity of disseminated breast cancer cells: implications for immunotherapy of minimal residual disease. Int J Cancer 1999;84(1):1-5.
9. Hsieh HB, Marrinucci D, Bethel K, et al. High speed detection of circulating tumor cells. Biosens Bioelectron. 2006;21(10):1893-9.
10. Alix-Panabieres C, Vendrell JP, Pelle O, et al. Detection and characterization of putative metastatic precursor cells in cancer patients. Clin Chem. 2007;53(3):537-9.
11. Wu CH, Lin SR, Yu FJ, et al. Development of a high-throughput membrane-array method for molecular diagnosis of circulating tumor cells in patients with gastric cancers. Int J Cancer. 2006;119(2):373-9.
12. Schardt, JA, Meyer M, Hartmann CH, et al. Genomic analysis of single cyto keratin-positive cells from bone marrow reveals early mutational events in breast cancer. Cancer Cell. 2005;8(3):227-39.
13. Klein CA. Parallel progression of primary tumours and metastases. Nat Rev Cancer. 2009;9(4):302-12.
14. Gangnus R, Langer S, Breit E et al. Genomic profiling of viable and proliferative micrometastatic cells from early-stage breast cancer patients. Clin Cancer Res. 2004;10(10): 3457-64.
15. Mathiesen RR, Fjellidal R, Liestol K, et al. High-resolution analyses of copy number changes in disseminated tumor cells of patients with breast cancer. Int J Cancer. 2012;131(4):E405-15.
16. Balic M, Lin H, Young L, et al. Most early disseminated cancer cells detected in bone marrow of breast cancer patients have a putative breast cancer stem cell phenotype. Clin Cancer Res. 2006;12(19):5615-21.
17. Pantel K, Brakenhoff RH, Brandt B. Detection, clinical relevance and specific biological properties of disseminating tumour cells. Nat Rev Cancer. 2008;8(5):329-40.
18. Braun S, Vogl FD, Naume B, et al. A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer. N Engl J Med. 2005;353(8):793-802.
19. Mansi J, Morden J, Bliss JM, et al. Bone marrow micrometastases in early breast cancer-30-year outcome. Br J Cancer. 2016;114(3):243-7.
20. AJCC Cancer Staging Manual, 7th ed Edge, S.B. et al, Springer, 2010.
21. AJCC Cancer Staging Manual, 8th ed Amin, M.B et al, Springer, 2017.
22. Hartkopf AD, Wallwiener M, Hahn M, et al. Simultaneous detection of disseminated and circulating tumor cells in primary breast cancer patients. Cancer Res Treat. 2016;48(1):115-24.
23. Braun S, Kantenich C, Janni W, et al. Lack of effect of adjuvant chemotherapy on the elimination of single dormant tumor cells in bone marrow of high-risk breast cancer patients. J Clin Oncol. 2000;18(1):80-6.
24. Rack B, Zombirt E, Trapp E, et al. Comparison of HER2 expression in primary tumor and disseminated tumor cells in the bone marrow of breast cancer patients. Oncology. 2016;90(4):232-8.
25. Li YM, Pan Y, Wei Y, et al. Upregulation of CXCR4 is essential for HER2-mediated tumor metastasis. Cancer Cell. 2004;6(5):459-69.
26. Banys M, Solomayer EF, Gebauer G, et al. Influence of zoledronic acid on disseminated tumor cells in bone marrow and survival: results of a prospective clinical trial. BMC Cancer. 2013;13:480.
27. Coleman R, ameron D, Dodwell D, et al. Adjuvant zoledronic acid in patients with early breast cancer: final efficacy analysis of the AZURE (BIG 01/04) randomised open-label phase 3 trial. Lancet Oncol. 2014; 15(9):997-1006.

► Capítulo 21

Clasificación molecular y genómica del cáncer de mama.

Teresa Checa Ruiz, Gemma Ferrandis Salvador.

Introducción.

En los últimos años, los avances de la biología molecular y la secuenciación del genoma nos han permitido dilucidar las posibles alteraciones genéticas asociadas a diferentes enfermedades. También nos han proporcionado conocimientos sobre la heterogeneidad del cáncer o, incluso, dentro de una misma patología tumoral, diferenciar subgrupos de características biológicas, clínicas y pronósticas totalmente diferentes.

En la era del BIG DATA, gracias al desarrollo de tecnologías de alto rendimiento que han hecho posible analizar infinidad de datos de forma simultánea, y el desarrollo de las llamadas ciencias “ómicas” (proteómica, metabolómica, transcriptómica, epigenómica...), hemos asistido a un cambio en la forma de entender y clasificar una enfermedad tan heterogénea y compleja como el cáncer de mama. Estos avances nos pueden ayudar a enfocar el tratamiento del cáncer de mama con más precisión y también a plantear ensayos clínicos con nuevos fármacos dirigidos a “contrarrestar” anomalías moleculares concretas.

La dificultad de llevar estos avances a la práctica clínica habitual, ha requerido aproximaciones subrogadas a esta nueva información. Así, tras definir los subtipos intrínsecos por el Dr. Charles M. Perou en el año 2000¹, se ha establecido una clasificación subrogada basada en los hallazgos de la inmunohistoquímica y la hibridación *in situ*.

La decisión del tratamiento adyuvante en el contexto del cáncer de mama inicial, se basa en factores pronósticos del riesgo de recidiva y factores predictivos de respuesta al tratamiento. Debemos valorar, asimismo, los riesgos de toxicidad y beneficio del tratamiento así como los factores dependientes de las pacientes y sus preferencias. El Dr. Charles M. Perou en el año 2000 publicó en la revista Nature el artículo que ha sido clave para la nueva clasificación del cáncer de mama¹.

Mediante un estudio no supervisado con microarrays definió 5 subtipos de cáncer de mama:

- Luminal A.
- Luminal B.
- Basal Like.
- HER2 positivo.
- Normal Like.

Esta clasificación, a posteriori, ha sido estudiada ampliamente, evidenciando que cada tipo molecular tiene una evolución clínica diferente y precisa, un enfoque terapéutico adecuado, desde el luminal A, de mejor pronóstico, hasta el basal (identificado como “triple negativo”), más agresivo y con elevadas tasas de recurrencia².

La clasificación molecular por subtipos intrínsecos presenta las limitaciones de la dificultad en su metodología. Así, en la clínica, nos basamos en el estado de los receptores hormonales de estrógenos y progesterona, amplificación o sobreexpresión de HER2 y el marcador de proliferación Ki67, aunque este último presenta el inconveniente de la dificultad de su estandarización y todavía no se ha establecido el “cutpoint” óptimo³, aunque se acepta un límite de corte del 20%, tal y como se definió en el Consenso de St. Gallen de 2015⁴.

Paralelamente al estudio del Dr. Charles M. Perou y cols., se desarrollaron perfiles genéticos supervisados (estudiando genes conocidos que están implicados en el pronóstico del cáncer de mama), que indican el perfil de riesgo. Disponemos de varias plataformas genéticas que nos orientan en el pronóstico y nos pueden ayudar a tomar decisiones en cuanto a la indicación de quimioterapia en tumores con receptores hormonales positivos.

► Tipo Normal Like:

Los tumores incluidos en este grupo sobreexpresan genes propios de las células mioepiteliales de la mama normal y de las células adiposas, con disminución de la expresión de genes característicos de las células luminales. Este subtipo carece de correlación clínica, por lo que no se acostumbra a usar en la práctica diaria.

► Tipo Luminal:

Constituye alrededor de un 75-80% de los carcinomas de mama. Se caracteriza por la alta expresión de genes asociados a las células epiteliales luminales del ducto mamario. Engloba el grupo de tumores que expresan receptores de estrógeno (RE). Dentro de este grupo se han definido subtipos con pronóstico y evolución diferente.

• Subtipo Luminal A:

RE (+), RP (+), HER2 (-), Ki 67 bajo. Constituye un 50-60% de los tumores luminales. Se caracteriza por su mejor pronóstico con menor incidencia de recaídas, siendo la ósea la más frecuente y presentando menor tasa de recaídas viscerales y en sistema nervioso central (SNC). Asimismo presentan mayor supervivencia en caso de recaída, alta tasa de respuesta a la hormonoterapia y escaso o nulo beneficio de la quimioterapia. En este sentido, en las guías clínicas NCCN y ESMO viene siendo recomendada la utilización de plataformas genéticas, si están disponibles, para precisar el riesgo y ayudar a la decisión de tratamiento quimioterápico adyuvante. En la reunión de consenso de St. Gallen 2015⁴, se ha estratificado el riesgo de acuerdo a estas plataformas, siempre que estén disponibles para su utilización.

• Subtipo Luminal B:

RE (+), RP (+/-), HER2 (+/-), Ki67 alto. Constituye un 10-20% de los tumores luminales. Presenta una expresión moderada baja de receptores estrogénicos y mayor expresión de genes de proliferación y ciclo celular. Representa el grupo de tumores luminales de mal pronóstico. Aunque la recidiva ósea sea frecuente, presentan mayor tasa de recidivas viscerales y la supervivencia desde el diagnóstico de la recidiva es inferior. Se benefician de la quimioterapia y la hormonoterapia.

► Triple Negativo:

RE (-), RP (-), HER2 (-). Se caracteriza por su negatividad a los receptores hormonales de estrógenos y progesterona y la ausencia de amplificación de HER2. Constituye un 10-15% de los cánceres de mama.

El tipo basal-like es habitualmente considerado como un fenotipo “**triple negativo**”, se asocia con la expresión de genes característicos de las células mioepiteliales basales del acino mamario. Por inmunohistoquímica (IHQ) presenta expresión de las citoqueratinas 5/6. Se asocia con la expresión de BRCA1 y de EGFR, con una alta tasa de proliferación y mal pronóstico clínico⁵⁻⁶.

A este heterogéneo grupo pertenecen los tumores con características tan diferentes como el carcinoma medular y el carcinoma metaplásico. Aunque no existe una definición IHQ clara, debemos diferenciar que todos los subtipos triple negativo, no expresan marcadores basales y no pertenecen al grupo de subtipo basal intrínseco.

Se han propuesto diferentes subclasificaciones^{7,8}, que nos permiten diferenciar cuatro subtipos⁹ dentro del cáncer de mama triple negativo, como son:

• Subtipo Basal-Like:

Las vías biológicas responsables del ciclo celular y la respuesta al daño del DNA están sobreactivadas, provocando proliferación celular acelerada. Cada vez hay más evidencia de la respuesta de este subtipo a tratamientos que incluyen sales de platino, estando en estudio terapias dirigidas (inhibidores de la PARP¹⁰).

• Subtipo Mesenquimal:

También llamado “**claudin low**”. Presentan alteraciones de los genes implicados en la motilidad celular, interacción extracelular con la matriz, transición epitelial-mesenquimal y la respuesta a factores de crecimiento. Más de la mitad suelen corresponder al subtipo histopatológico de carcinoma metaplásico¹¹. Presentan activación de la vía de PI3K/AKT, por lo que se han propuesto que podrían ser sensibles a los inhibidores de mTOR⁷.

- Subtipo Inmuno-enriquecido:

Se caracterizan por la activación de genes relacionados con los procesos inmunes. Están activadas las vías de señalización de las células T, células B, las natural killer y las células dendríticas. También la señalización responsable de la presentación de antígenos, señalización de citoquinas y la transducción de señal inmune. Se ha de considerar este subtipo histológico en la infiltración linfocitaria del estroma o el carcinoma medular. Este subtipo, suele tener mejor pronóstico que los demás triples negativos.

- Subtipo Luminal RA (Androgen Receptor):

Es el que presenta características más diferenciales. Presenta alteración de las vías de regulación hormonal y presentan vías de estrógenos/andrógenos diferentes a otros subtipos. Se están ensayando terapias de bloqueo androgénico, con bicalutamida¹² o enzalutamida¹³.

La quimioterapia es el único tratamiento disponible actualmente para estos tumores **“triple negativo”** que presentan sensibilidad a esquemas con antraciclina y taxanos, además de las sales de platino en el subgrupo de pacientes con mutaciones de BRCA. Presentan lo que denominamos **“paradoja del triple negativo”** pues, aunque presentan una mayor sensibilidad al tratamiento quimioterápico, la respuesta suele ser corta¹⁴.

Este subtipo presenta un reto para el estudio de nuevos fármacos.

- ▶ Tipo HER2 (+):

RE (-), HER2 (+). Se caracteriza por tener receptores de estrógenos negativos y alta expresión de genes relacionados con la amplificación de HER2. Se asocian a un peor pronóstico que los subtipos luminales A y B y son tributarios de un tratamiento diana específico con los anticuerpos monoclonales trastuzumab (Herceptin®) y pertuzumab (Perjeta®), así como pequeñas moléculas como lapatinib (Tykerb®) y T-DM1 (Kadcyla®), conjugado de anticuerpo y fármaco (trastuzumab-emtansina). Tienen una alta tasa de respuesta a esquemas de quimioterapia que incluyan antraciclina y/o taxanos¹⁵.

Esta distinción entre los patrones de expresión génica de los cánceres de mama, nos permite distinguir subclases tumorales con evoluciones clínicas diferentes. Los mejores pronósticos están reservados para los grupos luminal A y B y los menos favorables para los grupos HER2 positivo y basal, siendo los luminales A los de mejor pronóstico y los basales los de evolución más agresiva.

En los Consensos de St. Gallen 2011 y 2013 se adoptó un nuevo enfoque para la clasificación molecular con fines terapéuticos, basado en el reconocimiento de los subtipos histológicos. En la práctica clínica estos subtipos pueden ser reconocidos por criterios IHQ convencionales, a través de la clasificación subrogada.

En el Consenso de St. Gallen 2015⁴ se perfiló la clasificación de los tumores de mama distinguiendo el subtipo triple negativo, el subtipo HER2 positivo (con receptor hormonal positivo o bien receptor hormonal negativo). En los tumores receptor hormonal positivo (luminales), se diferenció entre alta expresión del receptor con baja proliferación (luminal A), grado intermedio y baja expresión del receptor con alta proliferación (luminal B).

En la [Tabla 21.I](#) se describen los subtipos intrínsecos subrogados de cáncer de mama según St. Gallen 2015, en la [Tabla 21.II](#) se detallan el perfil de biomarcadores de cada subtipo y en la [Tabla 21.III](#) el perfil genético. Véase pág. 152

▶ GRUPOS CLÍNICOS	▶ NOTAS
Triple negativo	RE, RPg y HER2 negativos
RH negativos y HER2 positivo	Guías clínicas ASCO/CAP
RH positivos y HER2 positivo	Guías clínicas ASCO/CAP
RH positivos y HER2 negativo, enfermedad luminal:	RE y/o RPg positivos $\geq 1\%$ ^a
▶ Luminal A-like: RH elevados, baja proliferación, baja carga tumoral.	Si es factible, perfil molecular de “bajo riesgo” Pronóstico favorable: RH altos, Ki67 bajo ^b , tamaño pequeño (T1-T2), carga ganglionar baja o ausente (N 0-3).
▶ Intermedio.	Si es factible, perfil molecular de “riesgo intermedio” ^c . Persiste la incertidumbre sobre riesgo y capacidad de respuesta a tratamiento citotóxico o endocrino.
▶ Luminal B-like: RH bajos, alta proliferación, alta carga tumoral.	Si es factible, perfil molecular de “pronóstico desfavorable”. RH bajos, Ki67 alto, mayor tamaño tumoral (T3), grado histológico 3, invasión linfo-vascular extensa, extensa afectación ganglionar.

RH: Receptores hormonales. RE: Receptor estrógeno. RPg: Receptor progesterona.

^a Valores RE entre 1 y 9% se consideran indeterminados. La capacidad de respuesta al tratamiento endocrino es indeterminada.

^b Valoración de Ki67 según el laboratorio.

Ej.: Si la mediana es del 20%, un 30% se consideran claramente altos y los de menos del 10% claramente bajos.

^c No todos los marcadores moleculares tienen un resultado intermedio.

Tabla 21.I. Tratamiento del cáncer de mama según subgrupo. St. Gallen 2015⁴.

▶ Subtipo	Perfil de biomarcadores					
	Incidencia (%)	RE	RP	HER2	Ki67 (%)	Otros
▶ Luminal A	50 – 60	+	+	–	< 14 – 20	Citoquinas 8 y 18
▶ Luminal B	15 – 20	+	+	–	> 14 – 20	Alto grado histológico. Citoquinas 8 y 18
▶ HER2	15 – 20	–	–	+	Alto	Citoquinas de tipo luminal
▶ Basal-Like	15 – 20	–	–	–	Alta	Citoquinas basales 5, 14 y 17. Aumento de EGFR

Adaptado de Bernhardt SM y cols¹⁶.

Tabla 21.II. Perfil inmunohistoquímico de los subtipos intrínsecos e incidencia.

▶ Subtipo	Cambios en la expresión génica
▶ Luminal A	Incremento en genes asociados con la función de RE, como: FOXA1, PgR, BCL2, EsR1, LIV1, ZIP6, SLC39A, XBP1, GATA 3, ARBB3/4 y TFF1
▶ Luminal B	Incremento en genes asociados con la función de RE, como: FOXA1, PgR, BCL2, EsR1 y GATA 3 Incremento de genes asociados a proliferación, como: CCNB1, CCND1, CCNE1, MYBL2, MKI67, v – MYB
▶ HER2	Amplificación del gen ERB2 y GRB7 Activación de la vía PI3K (AKT, pS6 y p4EBP1), correlacionados con INPP5B y pérdida de PTEN Incremento de genes asociados a proliferación, como: BIRC5, CCND1, CCNE1, MYBL2, MKI67, ORC6L
▶ Basal-Like	Expresión aumentada de EGFR Desregulación de MAPK/AKT/PI3K y de Ras/raf, así como JAK/STAT Expresión aumentada de FOXM1, cMYC, CCNE1, CCND1, CDC20, CDC6, BIRC5 Y ORC6L

Adaptado de Bernhardt SM y cols¹⁶.

Tabla 21.III. Cambios en la expresión génica de los subtipos intrínsecos.

☞ Take-Home messages: Ideas a retener.

- La clasificación molecular por subtipos intrínsecos presenta las limitaciones de la dificultad en su metodología y coste.
- En la práctica clínica empleamos habitualmente la “**clasificación subrogada**” por IHQ, basada en el estado de los receptores hormonales de estrógenos y progesterona, amplificación o sobreexpresión de HER2 y el marcador de proliferación Ki67, aunque este último presenta el inconveniente de la dificultad de su estandarización y todavía no se ha establecido el “**cutpoint**” óptimo, aunque se acepta un límite de corte del 20%, tal y como se definió en el Consenso de St. Gallen de 2015.
- La distinción entre los patrones de expresión génica de los cánceres de mama permite distinguir subclases tumorales con evoluciones clínicas diferentes.
- Los mejores pronósticos están reservados para los grupos luminal A y B y los menos favorables para los grupos HER2 positivo y basal, siendo los luminales A los de mejor pronóstico y los basales los de evolución más agresiva.

☞ Bibliografía:

1. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406(6797):747-52.
2. Loi S, Piccart M, Sotiriou C. The use of gene-expression profiling to better understand the heterogeneity of estrogen receptor positive breast cancers and tamoxifen response. *Crit Rev Onco Hematol* 2006;61(3):187-94.
3. Denkert C, Loibl S, Müller BM, et al. Ki 67 levels as predictive and prognosis parameter in pretherapeutic breast cancer core biopsies. *Ann Oncol*. 2013;24(11):2786-93.
4. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, et al. Tailoring therapies-Improving the management of early breast cancer: St Gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2015. *Ann Oncol* 2015;26(8):1533-46.
5. Hergueta-Redondo M, Palacios J, Cano A et al. “New” molecular taxonomy in breast cancer. *Clin Transl Oncol*. 2008;10(12):777-85.
6. Foulkes W, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple negative breast cancer. *N Engl J Med*. 2010;363(20):1938-48.
7. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest* 2011;121(7):2750-67.
8. Jézéquel P, Loussouam D, Guérib-Charbonnel C, et al. Gene- expression molecular subtyping of triple-negative breast cancer tumours: importance of immune response. *Breast Cancer Res* 2015;17:43.
9. Ahn SG, Kim SJ, Kim C, et al. Molecular classification of triple-negative breast cancer. *J Breast Cancer* 2016;19(3):223-30.
10. Watkins JA, Irshad S, Grigoriadis A, et al. Genomic scars as biomarkers of homologous recombination deficiency and drug response in breast and ovarian cancer. *Breast Cancer Res* 2014;16(3):211.
11. Weigelt B, Ng CK, Shen R, et al. Metaplastic breast carcinomas display genomic and transcriptomic heterogeneity [corrected]. *Mod Pathol* 2015;28(3):340-51.
12. Gucalp A, Tolaney S, Isakoff SJ, et al. Phase II trial of bicalutamide in patients with androgen receptor-positive, estrogen receptor-negative metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res* 2013;19(19):5505-12.
13. Traina TA, Miller K, Yardley DA, et al. Results from a phase 2 study of enzalutamide (ENZA), an androgen receptor (AR) inhibitor, in advanced AR+ triple-negative breast cancer (TNBC). *J Clin Oncol* 2015;33(15 Suppl):S1003.
14. Carey LA, Dees EC, Sawyer L, et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res*. 2007;13(8):2329-34.
15. Denkert C, von Minckwitz G, Brase JC, et al. Tumor infiltrating lymphocytes and response to neoadjuvant chemotherapy with o without carboplatin in human epidermal growth factor receptor 2-positive and triple-negative primary breast cancers. *J Clin Oncol*. 2015;33(9):983-91.
16. Bernhardt SM, Dasari P, Walsh D, et al. Hormonal modulation of breast cancer gene expression: Implications for intrinsic subtyping in premenopausal women. *Front Oncol* 2016;6:241.

► Capítulo 22

Implicaciones pronósticas y terapéuticas de la clasificación molecular del cáncer de mama.

María Fernández Abad, Belén Pérez Mies,
José Palacios Calvo.

Desde el año 2000, los marcadores moleculares han irrumpido con fuerza en el diagnóstico del cáncer de mama, permitiendo efectuar una caracterización molecular de los carcinomas en diferentes subtipos intrínsecos, que aportan información tanto pronóstica como predictiva. Dada la tecnología compleja que precisan y su elevado coste, en la práctica clínica habitual, se emplea una clasificación patológica subrogada de los subtipos intrínsecos, basada en los resultados de inmunohistoquímica (IHQ). Su resultado, se integra con los factores pronósticos clásicos de grado y subtipo histológico, que continúan vigentes en la actualidad. El objeto final es avanzar hacia las terapias personalizadas.

1. Caracterización molecular de los subtipos intrínsecos de cáncer de mama.

En la actualidad, está claramente establecida la presencia de 4 principales grupos moleculares de cáncer de mama (luminal A, luminal B, HER2-enriquecido y basal-like)¹. Esta clasificación, que fue inicialmente descrita en el año 2000 por Charles M. Perou, fue corroborada en el año 2012, gracias a la publicación del proyecto The Cancer Genome Atlas, el cual caracterizó más de 500 carcinomas ductales infiltrantes de mama a nivel del ADN, ARN y proteínas mediante las últimas plataformas genómicas disponibles. A continuación se detallan las principales características moleculares de cada subtipo intrínseco de cáncer de mama².

► Luminal A:

A nivel del ADN, son un grupo de tumores generalmente diploides con un bajo número de mutaciones y alteraciones cromosómicas (amplificaciones y deleciones). Sin embargo, han sido descritos como un subgrupo de tumores muy heterogéneos. La gran mayoría de los tumores luminales A van a presentar una importante proporción de mutaciones somáticas recurrentes. Por ejemplo, el 45%, 14% y 13% de tumores luminal A poseen mutaciones en los genes PIK3CA, GATA3 y MAP3K1, respectivamente. Solo un 12% poseen mutaciones en el gen supresor de tumores TP53 e incremento de la señalización de Aurora Kinasa que podría estar relacionado con un peor pronóstico. Además, se han descrito alteraciones con pérdida de actividad de complejos co-represores N-Cor y SMRT, que podrían predecir resistencias a terapias hormonales³.

A nivel del ARN y proteico, se trata de tumores con baja expresión de genes proliferativos (p.e. MKI67) y alta expresión de genes luminales como el receptor de estrógeno y el de progesterona. Aproximadamente un 10% de tumores con HER2 amplificado sobreexpresado son luminal A.

► Luminal B:

Comparado con el subtipo luminal A, los tumores luminal B son un grupo de tumores generalmente aneuploides con un mayor número de mutaciones y alteraciones cromosómicas. Cabe destacar la amplificación del gen de la ciclina D1 en un 60% de los casos, y que existe un subgrupo de tumores luminal B hipermetilados. El 29%, 29% y 15% de tumores luminal B poseen mutaciones en los genes PIK3CA, TP53 y GATA3, respectivamente.

A nivel del ARN y proteico, se trata de tumores con una elevada expresión de genes proliferativos y relacionados con el ciclo celular (p.e. MKI67) y de genes luminales como el receptor de estrógeno. Comparado con el subtipo luminal A, los tumores luminal B suelen tener menor expresión del receptor de progesterona⁴. Aproximadamente un 30% de tumores con HER2 amplificado/sobreexpresado son luminal B.

▶ **HER2-enriquecido:**

A nivel del ADN, son un grupo de tumores aneuploides con el mayor número de mutaciones y suelen poseer numerosas alteraciones cromosómicas. El 72% de tumores HER2-enriquecido poseen mutaciones en el gen TP53 y un 39% poseen mutaciones en el gen PIK3CA.

A nivel del ARN y proteico, se trata de tumores con una elevada expresión de genes relacionados con el HER2 (p.e. el mismo ERBB2, FGFR4 y GRB7) y genes proliferativos (p.e. MKI67) y expresión media de genes luminales. Aproximadamente un 50% de tumores con HER2 amplificado/sobre expresado son HER2-enriquecido.

▶ **Basal-like:**

A nivel del ADN, son un grupo muy heterogéneo de tumores aneuploides con el mayor número de alteraciones cromosómicas (sobre todo deleciones) y con mayor número de mutaciones (aunque la mayoría no son recurrentes). Curiosamente, la gran mayoría de tumores basal-like se encuentran en un estado de baja metilación del genoma comparado con el resto de subtipos. En cuanto a mutaciones somáticas recurrentes, el 80% poseen mutaciones en el gen TP53 y solo un 9% poseen mutaciones en el gen PIK3CA. A nivel al ADN germinal, los tumores basal-like se relacionan con las mutaciones hereditarias de BRCA1.

A nivel del ARN y proteico, se trata de tumores con una elevada expresión de genes que se relacionan con la capa basal de la epidermis (p.e. queratinas 5, 14, 17 y KIT) y genes proliferativos (p.e. MKI67) junto a una muy baja expresión de genes luminales. Aproximadamente un 10% de tumores con HER2 amplificado/sobre expresado son basal-like.

Recientemente, se han descrito dos subgrupos de tumores basal-like con diferente pronóstico en función de la expresión de genes de respuesta inmune, de transición epitelio-mesénquima y del ciclo-celular⁵.

▼ **Valor pronóstico y predictivo de los subtipos intrínsecos.**

El valor pronóstico de los subtipos intrínsecos, definido como el riesgo de presentar una recurrencia local o a distancia independientemente del tratamiento adyuvante sistémico recibido, ha sido demostrado desde que estos fueron identificados. El perfil luminal A es el de mejor pronóstico, seguido del luminal B, mientras que el perfil triple negativo y el HER2 enriquecido los de peor pronóstico^{6,7}.

Estudios posteriores han demostrado incluso que el valor pronóstico de los subtipos intrínsecos es independiente de la edad de la paciente⁷, del tamaño tumoral o la afectación ganglionar axilar⁸⁻¹⁰.

Respecto al valor predictivo, definido como los factores cuya presencia indica una respuesta a un determinado tratamiento, también ha sido analizado en algún estudio.

En el CAN-NCIC-MA.12¹¹ se ha analizado el valor predictivo de los subtipos al tratamiento endocrino. En este ensayo, pacientes pre-menopáusicas con tumores receptores de estrógeno positivos o negativos, y tras tratamiento local y quimioterapia sistémica, fueron aleatorizadas a tamoxifeno adyuvante versus placebo. El estudio mostró que el grupo luminal A/B definido por el PAM50 predice beneficio al tamoxifeno, mientras que el estado del RE por IHQ no muestra esta asociación aunque sí se observó una tendencia positiva. Ahora bien, no se comparó el beneficio del tratamiento endocrino del grupo luminal A versus luminal B.

Por otro lado, en el contexto¹² mediante PAM50 se confirmó que los subtipos HER2 enriquecido y basal like/triple negativo no respondían a inhibidores de aromatasa, mientras que las tasas de respuesta clínica y quirúrgica fueron similares en los tumores luminal A y B. Sin embargo la determinación de PEPI **“Preoperative Endocrine Prognostic Index”** score de 0, siendo estos los pacientes que presentan mejor pronóstico, fue superior en el subtipo luminal A (27.1% v 10.7%; P = .004). Estos datos sugieren que el beneficio relativo del tratamiento endocrino es similar en ambos grupos luminales.

En cuanto al beneficio a la poliquimioterapia de los subtipos intrínsecos en el contexto adyuvante, dónde las pacientes hayan sido aleatorizadas a tratamiento con placebo versus tratamiento con poliquimioterapia, no ha sido muy estudiado. Tenemos los datos de un estudio presentado en San Antonio Breast Cancer Symposium en 2015¹³ en el cual 1146 mujeres premenopáusicas con axila positiva y tumores > 5 cm eran aleatorizadas a 2 brazos de tratamiento (ciclofosfamida oral o ciclofosfamida-metotrexate-fluorouracilo, CMF) y 2 brazos sin quimioterapia (levamisol o nada), concluyendo los autores que el subtipo luminal A no presentó beneficio de la quimioterapia como sí lo presentaban el resto de subtipos.

Respecto a qué combinación de quimioterapia es más recomendable, en el ensayo NCIC.CTG MA.5¹⁴, que randomizó a 476 pacientes premenopáusicas con ganglios positivos a tratamiento adyuvante con CMF versus CEF (ciclofosfamida-epirrubicina-fluorouracilo), concluyó que subtipo HER2-enriquecido presentaba una alta sensibilidad al esquema con antraciclinas, mientras que en el resto de subtipos no se observó ninguna diferencia, lo que podría sugerir que los regímenes sin antraciclinas serían adecuados en estos subtipos.

En el contexto neoadyuvante¹⁴⁻¹⁶ se ha analizado la tasa de respuesta completa patológica, como factor subrogado de buen pronóstico, en los diferentes subtipos tras tratamiento con antraciclinas y taxanos. Estos estudios muestran que el subtipo luminal A tiene las tasas de respuesta completa patológica más bajas (~5%), seguido del luminal B (~15%), HER2-enriquecido (~50%; sin trastuzumab) y el basal-like (~35%). Estos datos sugieren también, que sí existe un beneficio diferencial de la poliquimioterapia en base al subtipo molecular, y que el subtipo luminal A es el que menos se beneficiaría. Ahora bien, esto no significa que los tumores luminal A no se pueden beneficiar de ningún agente citotóxico.

2. Clasificación patológica subrogada de los subtipos intrínsecos.

Dada la importancia clínica y la utilidad de la clasificación molecular para el tratamiento, se ha realizado un esfuerzo notable por su incorporación al ámbito clínico a través de técnicas más accesibles como es la inmunohistoquímica (IHQ). Las conferencias de consenso de St. Gallen han propuesto sucesivamente distintas clasificaciones basadas en la determinación inmunohistoquímica de RE, RP, Ki67 y HER2¹⁷⁻²⁰.

1/ Luminal A-like:

Carcinomas de mama RE+/HER2- con Ki67<14% o con expresión intermedia de Ki67 (14% a 19%) cuando la expresión de RP es alta (>20%).

2/ Luminal B-like (HER2 negativo):

Carcinomas de mama RE+/HER2- con Ki67 <20% o con expresión intermedia de Ki67 (14% a 19%) cuando no hay expresión de RP o ésta es baja (<20%).

3/ Luminal B-like (HER2 positivo):

Carcinoma de mama RE+ y HER2+ que expresa cualquier proporción de RP y Ki67.

4/ HER2-positivo (no luminal):

Carcinoma de mama HER2+, que no expresa RE ni RP, independientemente del valor del Ki67.

5/ Triple negativo (ductal):

Carcinoma de mama que no expresa RE, RP ni HER2, independientemente del valor de Ki67.

En la última conferencia de St. Gallen 2017²⁰ el panel de expertos considera que está clasificación IHQ refleja la biología de los tumores y que la expresión de RE y RP junto con Ki67 elevado, ayuda a diferenciar entre tumores luminal A y B. Sin embargo se reconoce ya la importancia de las plataformas multigénicas en la separación de estos dos último subtipos.

Es conocido que esta clasificación no es del todo concordantes con los subtipos intrínsecos que se obtendría empleando técnicas moleculares^{21,22}. La mayor discordancia la tenemos en la determinación de HER2. En el ensayo N9831, para tumores HER2 amplificados por IHQ o hibridación, sólo el 72,1% correspondían a tumores HER-enriquecidos usando el algoritmo de Prosigna^{®23}.

En otros trabajos ocurre lo contrario, hasta un 30% de los carcinomas de mama que son negativos para HER2 por IHQ o *hibridación in situ*, serían clasificados como HER2-enriquecidos por métodos moleculares.

De manera similar, el grupo de carcinomas clasificados como basal-like está compuesto en un 75% de los casos por carcinomas triples negativos, mientras que el 50-70% de los carcinomas diagnosticados como triples negativos, según las diferentes series, corresponden a carcinomas basal-like. Es bien conocido, que el subgrupo de los carcinomas triple negativos es muy heterogéneo y está formado por distintos subtipos moleculares tales como el luminal apocrino, inmunomodulador, mesenquimal-like, etc.

No obstante, no existen suficientes estudios que hayan comparado de manera sistemática la clasificación molecular y patológica utilizando los criterios IHQ expuestos anteriormente, ya que en la mayoría de los estudios comparativos se suele omitir la expresión de Ki67, debido a su falta de reproducibilidad y no se tienen en cuenta los valores de expresión de RP.

En cualquier caso, debido a su importancia clínica, la clasificación patológica subrogada de los subtipos intrínsecos requiere de una adecuada estandarización de los métodos IHQ. El seguir estrictamente las guías vigentes para realizar las determinaciones mejora notablemente los resultados^{24,25}.

Incorporar marcadores adicionales como por ejemplo citoqueratinas basales como CK5/6, CK17, la expresión del receptor de andrógenos, etc. ayudan a discriminar mejor los carcinomas triple negativos. Además, la incorporación del grado histológico para una mejor definición de los subtipos luminales, pueden hacer más útil la clasificación patológica subrogada de los subtipos moleculares.

En los últimos años, la respuesta inmune del organismo frente al tumor y los mecanismos de evasión de la inmunidad está cobrando mucha importancia y probablemente, sea un nuevo dato a tener en cuenta a la hora de tipificar un carcinoma de mama. Para el desarrollo de estas terapias es necesario identificar los determinantes genéticos de los fenotipos inmunes de los cánceres de mama, a lo que el TCGA está contribuyendo con nuevos avances^{23,27}.

3. Implicaciones terapéuticas de los subtipos intrínsecos.

La decisión de tratamiento complementario, en el cáncer de mama en estadios precoces depende de diferentes factores. En primer lugar es imprescindible tener en cuenta los factores pronósticos del propio tumor así como, la presencia de factores predictivos de respuesta al tratamiento.

Una vez evaluados estos, también debemos tener en cuenta la situación clínica de la paciente, las posibles comorbilidades y las toxicidades esperadas de los tratamientos, así como sus preferencias personales.

En función de la expresión de diferentes genes publicado por “**The Cancer Genome Atlas Network**” en Nature 2012² se han establecido principalmente 4 subtipos que serían: luminal A, luminal B, HER2 enriquecido y basal-like/triple negativo. Sin embargo, en la práctica clínica habitual se hace una clasificación subrogada de las neoplasias en función del perfil de expresión inmunohistoquímica de 4 marcadores (Receptores de estrógenos y progesterona, HER2 y ki67).

La identificación de los diferentes subtipos ha demostrado tener una clara importancia terapéutica ya que es conocido que, los tumores luminal A son los que presentan mejor pronóstico, mientras que los tumores triple negativo/basal-like son los más agresivos con mayores tasas de recurrencia y más precoces que el resto de subtipos.

En la **Tabla 22.1** Véase pág. 158 se han resumido las características clínicas que se utilizan para la toma de decisiones, sin embargo en la práctica habitual no resulta tan sencillo y en muchos casos es difícil establecer sin dudar, si la paciente presenta un tumor luminal A y B. Esto es imprescindible para establecer el riesgo y por supuesto el beneficio de la quimioterapia adyuvante, que solo se obtiene en los tumores luminal B.

La expresión de RE>1% es considerado como positivo sin embargo según el último consenso de expertos de St Gallen 2017^{20,27} los valores de 1-9% crean controversia ya que son un grupo reducido de pacientes, que no está bien representado en los estudios clínicos y que parecen presentar mal pronóstico, similar a los tumores con receptores hormonales negativos.

Por otro lado, siguen planteándose dudas en cuanto al punto de corte en la determinación de Ki67. El 79% de los expertos apoyan que un Ki67 elevado permitiría distinguir entre un luminal A y un luminal B, sin embargo la gran mayoría consideran que para establecer una **correcta diferenciación entre ambos subtipos, es necesario utilizar las plataformas génicas** comerciales disponibles como Breast Cancer Index, EndoPredict® (EPclin), MammaPrint®, OncotypeDx®, y Prosigna^{20,27}.

Para completar este capítulo en la **Tabla 22.II** se resumen las principales indicaciones terapéuticas en función de los diferentes subtipos identificados mediante las características clínicas²⁰.

Subtipo	Características clínicas	Características moleculares
• Luminal A	<ul style="list-style-type: none"> RE y/o RP positivos HER2 negativo Ki 67 bajo Bajo grado 	<ul style="list-style-type: none"> PIK3CA mut (49%) TP53 mut (12%) GATA3 mut (14%) MAP3K1 mut (14%) Expresión mRNA baja proliferación
• Luminal B	<ul style="list-style-type: none"> RE y/o RP positivos HER2 positivo o negativo Ki 67 alto Intermedio o alto grado Invasión linfocelular extensa 	<ul style="list-style-type: none"> PIK3CA mut (32%) TP53 mut (32%) MAP3K1 mut (5%) Cyclin D1 amp (58%) Expresión mRNA alta proliferación
• HER2 enriquecido	<ul style="list-style-type: none"> RE y/o RP negativos HER2 positivo 	<ul style="list-style-type: none"> PIK3CA (42%) TP53 (75%) PIK3R1 (8%) Expresión mRNA alta proliferación
• Triple negativo	<ul style="list-style-type: none"> RE y RP negativos HER2 negativo 	<ul style="list-style-type: none"> PIK3CA mut (7%) TP53 mut (84%) Expresión mRNA alta proliferación

Tabla 22.I. Características clínicas y moleculares de los diferentes subtipos según consenso de St. Gallen 2015-2017 y The Cancer Genome Atlas Network.

Subtipo	Tipo de tratamiento	Anotaciones
• Triple negativo	Quimioterapia incluyendo antraciclina y taxanos	<ul style="list-style-type: none"> En pT1a pN0 la quimioterapia podría ser evitada. Considerar quimioterapia con platinos en mutación BRCA conocida.
• HER2+ y RH negativos		
- T1a ganglios negativos	No precisa tratamiento sistémico.	
- T1b, c ganglios negativos	Quimioterapia + trastuzumab	Considerar paclitaxel + 12 meses de trastuzumab. Sin antraciclina.
- Alto T ó ganglios positivos	Antraciclina + taxano + trastuzumab 12 meses.	<ul style="list-style-type: none"> No candidatas a antraciclina valorar esquema TCH. En neoadyuvancia asociar pertuzumab.
• HER2+ y RH positivos	Igual que el anterior hormonoterapia según status menopáusico	
• Luminal A	Hormonoterapia según status hormonal.	
- Premenopausia bajo riesgo	Tamoxifeno 5 años.	Supresión ovárica (SO) debe ser considerada en mujeres < 35 años.
- Premenopausia alto riesgo	Tamoxifeno 5-10 años ó SO + tamoxifeno ó SO + exemestano.	
- Postmenopausia bajo riesgo	Tamoxifeno o Inhibidor de la aromatasas (IA) 5 años	
- Postmenopausia alto riesgo	IA preferiblemente	
• Luminal B	Quimioterapia + hormonoterapia	Si plataforma génica de bajo riesgo omitir quimioterapia.

Tabla 22.II Recomendaciones de tratamiento adyuvante sistémico. Consenso St Gallen 2017²⁷.

☞ Take-Home messages: Ideas a retener.

- Los factores pronósticos clínico-patológicos clásicos siguen vigentes y son imprescindibles para establecer un pronóstico y un tratamiento adyuvante adecuado. Es útil consultar el programa: <http://www.predict.nhs.uk/index.html>
 - Los factores predictivos validados son los RH y el HER2.
 - En la práctica clínica diaria, los factores pronósticos y predictivos utilizados son los anatomopatológicos convencionales (tipo histológico, tamaño del tumor, grado histológico, afectación axilar, invasión vascular linfática y perineural, etc.), y los IHQ (RE, RP, HER2, p53 y Ki67).
 - Nuevos marcadores biológicos como: ciclinas, PAI-1, células circulantes periféricas, micrometástasis medulares, TILs, entre muchos otros, podrán ayudarnos en un próximo futuro.
 - La nueva clasificación molecular y los tests genéticos, pueden permitir una mejor estratificación pronóstica y predictiva.
 - Las diferentes plataformas genéticas disponibles han sido validadas en estudios retrospectivos. Los resultados prospectivos presentados hasta el momento del estudio TAYLORx confirma el buen pronóstico de las pacientes con RS < 11. En el estudio Mindact se ha observado que hasta el 46% de las pacientes clasificadas por criterios clásicos como de alto riesgo presentan un MammaPrint® de bajo riesgo y una supervivencia sin metástasis a los 5 años superior al 94%, independientemente de si recibieron o no tratamiento de quimioterapia
 - El estudio Mindact avala el uso de plataformas en mujeres con afectación axilar de 1 a 3 ganglios. En esta misma línea, se espera resultados del ensayo RxPonder.
 - La clasificación patológica subrogada de los subtipos intrínsecos nos permite tomar decisiones en la práctica clínica diaria. Su determinación por IHQ es viable en la mayoría de laboratorios de anatomía patológica.
- La cantidad de parámetros diagnósticos y terapéuticos que inciden en el cáncer de mama, pone de relieve la necesidad de que cada mujer sea evaluada por un Comité de Tumores o Unidad de Patología Mamaria Interdisciplinaria.
 - Puede afirmarse que la era de la medicina personalizada ya ha empezado. Progresivamente estaremos en condiciones de ofrecer, a cada paciente, una estrategia terapéutica integrada e individualizada (tailored therapy) a su singular e irrepetible situación clínica y biológica.

Bibliografía:

1. Perou C, Sørlie T, Eisen M et al. Molecular portraits of human tumors. *Nature* 2000;406(6797):747-52.
2. Koboldt DC, Fulton, McLellan MD, et al. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2012;490(7418):61-70.
3. Ciriello G, Sinha R, Hoadley A, et al. The molecular Diversity of luminal A Breast tumors. *Breast Cancer Res Treat* 2013;141(3):409-20.
4. Prat A, Cheang MC, Martín M, et al: Prognostic significance of progesterone receptor-positive tumor cells within immunohistochemically defined luminal A breast cancer. *J Clin Oncol* 2013;31(2):203-9.
5. Milioli HH, Tishchenko I, Riveros C, et al. Basal-Like breast cancer: molecular profiles, clinical features an Survival outcomes. *BMC Medical Genomics* 2017;10(1):19.
6. Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc natl Acad Sci USA* 200;98(19):10869-74.
7. Sørlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc natl Acad Sci USA*. 2003;100(14):8418-23.
8. De Kruijf EM, Bastiaannet E, Rubertá F, et al. Comparison of frequencies and prognostic effect of molecular subtypes between young and elderly breast cancer patients. *Mol Oncol*. 2014;8(5):1014-25.
9. Gnant M, Sestak I, Filipits M, et al. Identifying clinically relevant prognostic subgroups of postmenopausal women with node-positive hormone receptor-positive early-stage breast cancer treated with endocrine therapy: a combined analysis of ABCSG-8 and ATAC using the PAM50 risk of recurrence score and intrinsic subtype. *Ann Oncol*. 2015;26(8):1685-91.
10. Cheang MC, Voduc KD, Tu D, et al. Responsiveness of intrinsic subtypes to adjuvant anthracycline substitution in the NCCIC. CTG MA.5 Randomized trial. *Clin Cancer Res*. 2012;18(8):2402-12.
11. Chia SK, Bramwell VH, Tu D, et al. A 50-Gene Intrinsic Subtype Classifier for Prognosis and Prediction of Benefit from Adjuvant Tamoxifen. *Clin Cancer Res*. 2012;18(16):4465-72.
12. Ellis MJ, Suman VJ, Hoog J, et al: Randomized phase II neoadjuvant comparison between letrozole, anastrozole, and exemestane for postmenopausal women with estrogen receptor-rich stage 2 to 3 breast cancer: Clinical and biomarker outcomes and predictive value of the baseline PAM50-based intrinsic subtype-ACOSOG Z1031. *J Clin Oncol* 2011;29(17):2342-49.
13. Nielsen TO, Jensen MB, Gao D, et al. High-risk premenopausal luminal A breast cancer patients derive no benefit from adjuvant chemotherapy: Results from the DBCG77B randomized trial. *San Antonio Breast Cancer Symposium* 2015. Abstract S1-08.
14. Rouzier R, Perou C, Symmans W et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005;11(16):5678-85.
15. Prat A, Fan C, Fernández A, et al. Response and survival of breast cancer intrinsic subtypes following multi-agent neoadjuvant chemotherapy. *BMC Med* 2015;13:303.
16. Esserman LJ, Berry DA, Cheang MC, et al. Chemotherapy response and recurrence-free survival in neoadjuvant breast cancer depends on biomarker profiles: results from the I-SPY 1 TRIAL (CALGB 150007/150012; ACRIN 6657). *Breast Cancer Res Treat* 2012;132(3):1049-62.
17. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2013. *Ann Oncol*. 2013;24(9):2206-23.
18. Maisonneuve P, Disalvatore D, Rotmensz N, et al. Proposed new clinicopathological surrogate definitions of luminal A and luminal B (HER2-negative) intrinsic breast cancer subtypes. *Breast Cancer Res*. 2014;16(3):R65.
19. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A et al. Tailoring therapies-improving the management of early breast cancer: St. Gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2015. *Annals Oncol* 2015;26(8):1533-46.
20. Gnant M, Harbeck N and Thomsen C. St. Gallen/Vienna 2017: A brief summary of the consensus discussion about escalation and de-escalation of primary breast cancer treatment. *Breast Care* 2017;12(2):102-7.
21. Bastien RR, Rodríguez-Lescure A, Ebbert MT, et al. PAM50 breast cancer subtyping by RT-qPCR and concordance with standard clinical molecular markers. *BMC Med Genomics*. 2012;5:44.
22. Cheang MC, Martin M, Nielsen TO, et al. Defining breast cancer intrinsic subtypes by quantitative receptor expression. *Oncologist* 2015;20(5):474-82.
23. Pérez EA, Ballman K, Tenner K, et al. Association of stromal tumor-infiltrating lymphocytes with recurrence-free survival in the N9831 adjuvant trial in patients with early-stage HER2-positive breast cancer. *JAMA Oncol* 2016;2(1):56-64.
24. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, et al. American Society of Clinical Oncology/College Of American Pathologists guideline recommendations for immuno- histochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010;28(16):2784-95.
25. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, et al. Recommen-dations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol* 2013;31(31):3997-4013.
26. Mansour M, Teo ZL, Luen SJ, et al. Advancing immunotherapy in metastatic breast cancer. *Curr Treat Options Oncol* 2017;18(6):35.
27. Morigi C. Highlights form the 15th St Gallen International Breast Cnacer Conference 15-18 March 2017, Vienna: tailored treatments for patients with early breast cancer. *Ecancermedalscience* 2017;11:732.

► Capítulo 23

Firmas genéticas.

▼ Introducción.

Josep Isern Verdum.

Las pacientes que se benefician de un tratamiento adyuvante con quimioterapia, radioterapia o tratamiento hormonal se identifican mediante unos criterios como: edad, tamaño tumoral, estado de los ganglios linfáticos, grado, tipo histológico y estado de los receptores; pero estos criterios son imperfectos. Así, pacientes que precisan ser tratadas, no lo son, y otras pacientes son tratadas innecesariamente. Es necesario mejorar la evaluación pronóstica.

Los progresos en las técnicas genéticas han permitido que el diagnóstico del cáncer de mama también pueda participar en la nueva era genómica. De estos nuevos avances debemos destacar los ADN microarray (gene chip o ADN chip), técnica basada en una plataforma que consta de una colección de pozuelos microscópicos de ADN (“**features**”), que normalmente representan un gen o transcriptor, ordenados y fijados en una base sólida mediante enlaces covalentes o directamente sintetizados en dicha base. Estas medidas cuantitativas o cualitativas se realizan mediante hibridaciones de naturaleza ADN-ADN, o ADN-ARN en condiciones muy restrictivas y basadas en su detección por fluorescencia. Estos microarrays nos permiten definir un perfil de expresión genética, que puede medir desde unos cuantos genes hasta miles de ellos de forma simultánea. De forma resumida, la expresión genética es la determinación del ARN mensajero en una célula y así estudiar de una manera indirecta una vía proteica. Otro método utilizado para la determinación del perfil genómico es la reacción en cadena de la polimerasa, conocida como PCR por sus siglas en inglés (Polymerase Chain Reaction). Es una técnica de biología molecular cuyo objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular, partiendo de un mínimo; en teoría basta partir de una única copia de ese fragmento original, o molde. Esta técnica sirve para amplificar un fragmento de ADN; su utilidad es que tras la amplificación, resulta mucho más fácil identificar el gen problema.

El diagnóstico de genes presentes en el genoma tumoral es un proceso largo y complicado que puede acortarse significativamente gracias a la PCR. Cada uno de los genes prueba se pueden amplificar mediante sus correspondientes “**primers**” y posteriormente secuenciar para detectar la existencia de mutaciones.

No debemos olvidar que con estos métodos estudiamos la vía proteica de forma indirecta y únicamente desde el punto de vista cuantitativo no funcional, lo que representa una limitación de los tests genéticos basados en microarrays y PCR.

La cuantificación de ciertos genes y la aplicación de unos coeficientes de ponderación según el impacto en su valor predictivo, ha sido crucial para obtener los llamados test genéticos predictivos. Su desarrollo consta de tres fases. En la fase I se valora el descubrimiento y optimización del test. En la fase II se efectúa una validación independiente y la determinación de su precisión. En la fase III se comprueba su utilidad clínica.

En conclusión, la implantación de las técnicas moleculares en el estudio rutinario del cáncer de mama requerirá de un proceso de validación, estandarización y obviamente disminución de los costes. Los datos que aportarán los estudios prospectivos multicéntricos de cada plataforma serán la base del diseño de los futuros protocolos de tratamiento del cáncer de mama en práctica clínica, indicando con datos objetivos qué pacientes serán las candidatas optimas a tratamiento adyuvante

En la actualidad han aparecido diferentes test que se encuentran en diferentes etapas de desarrollo. El dilema surge ¿Cual utilizar?. Un conocimiento de las características del test, su valor predictivo y sobretudo de las particularidades de la población de pacientes sobre la que se ha desarrollado el test dará la respuesta.

Seguidamente se describen los cuatro tests genéticos más utilizados en la práctica clínica, los autores han sido designados por las compañías promotoras de cada test, se ha respetado totalmente el redactado y se ha incluido una bibliografía al final de cada apartado aportada por los autores.

1. Test MammaPrint®.

Jesús Soberino García.

▼ Descripción técnica del test.

MammaPrint® es una plataforma genética que se basa en el uso de arrays de expresión, para establecer el riesgo de recaída de una paciente intervenida de cáncer de mama. Para ello, sobre la muestra del tumor obtenida en la cirugía se deben de seguir los siguientes pasos¹:

- 1/ Aislar el RNA de la muestra.
- 2/ Tratamiento con DNAsa del RNA aislado.
- 3/ Transcripción a cDNA y después a cRNA.
- 4/ Marcaje con fluorescencia del cRNA.
- 5/ Purificación del cRNA y posterior hibridación de este cRNA del tumor con las muestras de referencia en MammaPrint®.
- 6/ Escanear los microarray y adquisición de datos.
- 7/ Calcular y determinar el riesgo de recurrencia (Risk of Recurrence, ROR) en las pacientes afectas de cáncer de mama.

En un inicio el test utilizaba muestras de tumor frescas-congeladas. Dados los problemas que se podrían presentar con el tipo habitual de conservación de la muestra, se realizó una validación de la plataforma con muestras incluidas en parafina, siendo la precisión del 97.3%, con una reproducibilidad del 97.8%, con una alta concordancia (96%)² entre muestras estudiadas en dos laboratorios.

▼ Justificación científica de los genes.

Esta firma utiliza 70 genes que se relacionan con características del cáncer incluyendo metabolismo celular, apoptosis, autosuficiencia en señales de crecimiento, insensibilidad a señales antiproliferativas, potencial de replicación ilimitado, invasión tisular/metástasis y angiogénesis. En un inicio se cribaron un grupo de 25.000 genes, de los cuales 5.000 se encontraron como significativamente regulados, encontrándose dos grupos de tumores bien diferenciados, que se denominaron en base a su evolución clínica como de buen y mal pronóstico³. Tras calcular el coeficiente de correlación de la expresión para cada gen con la evolución de la enfermedad, se redujo el número de genes a 231, posteriormente y tras nuevas clasificaciones la exactitud mejoró hasta que se consiguió el número óptimo de 70 genes.

A modo de resumen los genes que se analizan con el test, clasificados según la característica de la célula cancerígena con la que se relacionan, son⁴:

- ▶ Resistencia adquirida a la apoptosis: BBC3, EGLN1.
- ▶ Interrupción de señales antiproliferativas: TGFB3.
- ▶ Expresión alterada de factores de crecimiento: ESM1, IGFBP5, FGF18, SCUBE2, TGFB3, WISP1.
- ▶ Proliferación y transformación oncogénica: FLT1, HRASLS, STK32B, RASSF7, DCK, MELK, EXT1, GNAZ, EBF4, MTDH, PITRM1, QSCN6L1.
- ▶ Ciclo celular incontrolado: CCNE2, ECT2, CENPA, LIN9, KNTC2, MCM6, NUSAP1, ORC6L, TSPYL5, RUNDL1, PRC1, RFC4, RECQL5, CDCA7, DTL.
- ▶ Adhesión y remodelado alterado de la matriz extracelular: COL4A2, GPR180, MMP9, GPR126, RTN4RL1.
- ▶ Aumento de motilidad celular o reorganización de filamentos de actina: DIAPH3, CDC42BPA, PALM2.
- ▶ Angiogénesis mantenida: ALDH4A1, AYTL2, OXCT1, PECI, GMPS, GSTM3, SLC2A3, FLT1, FGF18, COL4A2, GPR180, EGLN1, MMP9.
- ▶ Función desconocida: LOC100288906, C9orf30, ZNF533, C16orf61, SERF1A, C20orf46, LOC730018, LOC100131053, AA555029_RC, LGP2, NMU, UCHL5, JHDM1D, AP2B1, MS4A7, RAB6B.

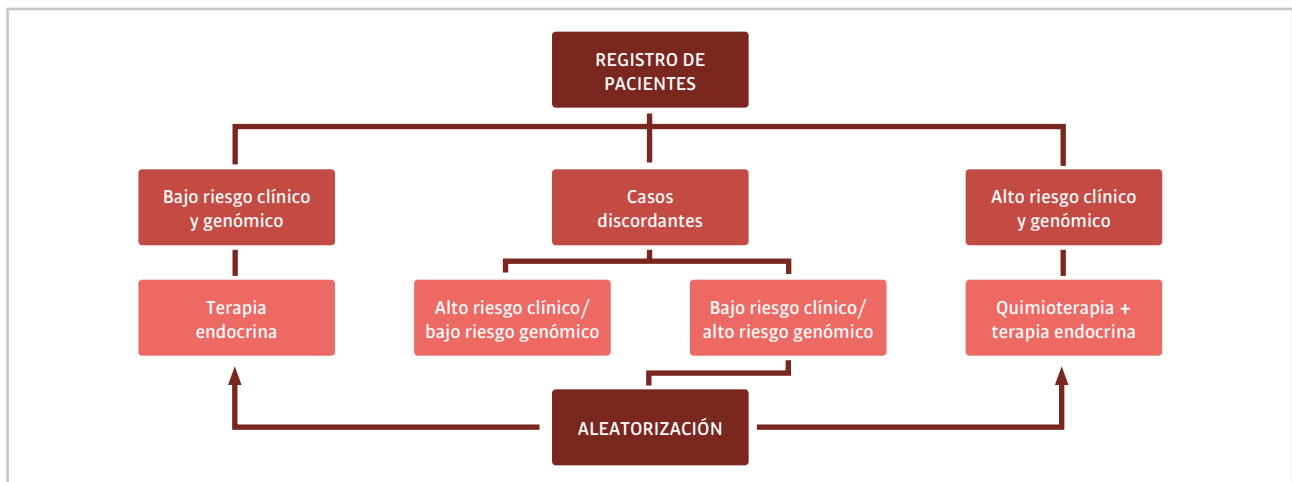


Figura 23.1. Diseño del estudio MINDACT⁵ (Microarray In Node-Negative Disease may Avoid Chemotherapy).

▼ Estudios de validación. Evidencia clínica.

La principal evidencia clínica para el uso del test MammaPrint[®] viene derivada del estudio clínico MINDACT⁵ (*Microarray In Node-Negative Disease may Avoid Chemotherapy*), estudio fase III en pacientes NO (ganglios negativos) o N1 (de 1 a 3 ganglios) para la selección de pacientes para quimioterapia adyuvante.

Este estudio aleatorizó 6.600 pacientes, a las cuales se les aplicaba el test MammaPrint[®] para dividirlos en bajo o alto riesgo (riesgo genómico) y a la vez se aplicaba una herramienta de predicción basada en algoritmo que incluyese datos clínicos y biológicos tal como Adjuvant! Online (riesgo clínico). De esta forma se dividieron a las pacientes en 4 grupos (Fig. 23.1):

- ▶ Bajo riesgo clínico/Bajo riesgo genómico (41% de las pacientes): que realizaron solamente terapia endocrina.
- ▶ Alto riesgo clínico/Alto riesgo genómico (27% de las pacientes): realizaron tratamiento de quimioterapia y tratamiento endocrino.
- ▶ Grupo discordante: las pacientes se aleatorizaban a recibir terapia endocrina o quimioterapia y terapia endocrina.
 - Alto riesgo clínico/Bajo riesgo genómico (23.2% de las pacientes).
 - Bajo riesgo clínico/Alto riesgo genómico (8.8% de las pacientes).

El objetivo primario del estudio era la supervivencia sin metástasis a distancia (tasa libre de eventos a los 5 años) en el grupo de pacientes discordantes.

Se precisó hacer cribado de 11.288 pacientes, de las que 6.693 se incluyeron en el estudio. A los 5 años las pacientes con alto riesgo clínico y bajo riesgo genómico tenían una supervivencia de 94.7% (IC 92.5-96.2), alcanzando el estudio su objetivo primario. Esta diferencia no era significativa entre las pacientes que recibieron quimioterapia frente a las que no la recibieron.

▼ Indicaciones actuales demostradas.

El estudio MINDACT confirma la hipótesis principal de que la integración de la firma genómica permite la identificación de una cohorte de tumores RE-positivos con buen pronóstico sólo con la terapia endocrina, independientemente de un mayor estadio T y estado N1. La mayoría de tumores RE-positivo, HER2 negativo, en estadios I y II, incluyendo N1, justifican el uso del perfil genómico para una óptima toma de decisiones de la terapia adyuvante⁶.

Recientemente y a la luz de estos datos la Sociedad Americana de Oncología (ASCO) ha recomendado el uso de MammaPrint[®] para⁷:

1/ Pacientes con cáncer de mama receptor hormonal positivo, HER2-negativo de alto riesgo clínico para guiar las decisiones sobre evitar la quimioterapia.

2/ Actualmente la única prueba genómica que se utilizará para orientar las decisiones de tratamiento en pacientes con cáncer de mama precoz con 1-3 ganglios linfáticos afectados.

De igual manera en el último consenso de St. Gallen (2017), se recomienda esta prueba tanto para pacientes con ganglios linfáticos negativos como para los ganglios linfáticos positivos. De hecho, cada una de las cuatro Guías que incluyeron en 2017 una revisión de los resultados publicados de este estudio único han añadido o ampliado la recomendación de MammaPrint®⁸.

▼ Perspectivas de futuro.

El futuro de MammaPrint® pasará por la selección de pacientes no solo para tratamiento adyuvante, sino también para la toma de decisiones en el contexto neoadyuvante⁹, intentando desescalar al máximo la intensidad del tratamiento de las pacientes con cáncer de mama RE positivo HER2 negativo, en este sentido estamos pendientes del estudio IMPACT (Measuring the Impact of MammaPrint® on Adjuvant and Neoadjuvant Treatment in Breast Cancer Patients: A Prospective Registry).

📖 Bibliografía:

1. Van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 2002;347(25):1999-2009.
2. Buyse M, Loi S, van't Veer L, et al. Validation and clinical utility of a 70-gene prognostic signature for women with node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2006;98(17):1183-92.
3. van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002;415(6871):530-6.
4. Tian S, Ropeman P, van't Veer L, et al. Biological functions of the genes in the MammaPrint® breast cancer profile reflect the hallmarks of cancer. *Biomark Insights* 2010;5:129-138.
5. Cardoso F, van't Veer L, Bogaert J, et al. 70-Gene signature as an aid to treatment decisions in early-stage breast cancer. *N Engl J Med* 2016;375(8):717-29.
6. Sgroi DC, Brufsky A. Biomarkers for early-stage breast cancer: clinical utility for extended adjuvant treatment decisions. *J Clin Oncol*. 2016. Pii:JCO672949.
7. Krop I, Ismaile N, Andre F, et al. Use of Biomarkers to Guide Decisions on Adjuvant Systemic Therapy for Women With Early-Stage Invasive Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Focused Update. *J Clin Oncol* 2017;35(24):2838-47.
8. Curigliano G, Burstein J, Winer EP, et al. De-escalating and Escalating Treatments for Early Stage Breast Cancer: The St. Gallen International Expert Consensus Conference on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017. *Ann Oncol* 2017;28(8):1700-12.
9. Györfy B, Hatzis C, Sanft T, et al. Multigene prognostic tests in breast cancer: past, present, future. *Breast Cancer Res* 2015;17:11.

2. Test OncotypeDx®.

Javier Gayo Ramos.

▼ Descripción técnica.

El test OncotypeDx® para cáncer de mama invasivo ha sido desarrollado por Genomic Health Inc. Fue el primer test validado clínicamente y cuenta con una gran evidencia científica, al disponer de estudios con resultados prospectivos consistentes que han incluido a más de 60.000 pacientes. Cuantifica la expresión de 21 genes en muestras tisulares de cáncer de mama, mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) en tiempo real¹. Se realiza en muestras de tejido tumoral fijado en formaldehído y embebido en parafina. Las muestras se procesan en un laboratorio central regulado por la Ley de Mejora de los Laboratorios Clínicos (CLIA) americana y por el Colegio de Patólogos Americanos (CAP).

La técnica es precisa, exacta y altamente reproducible en un amplio rango dinámico. Minimiza la variabilidad que puede resultar del método de preparación del tejido, tipo de fijador tisular y tiempo de fijación, la antigüedad del bloque tumoral, la variabilidad en la preparación y almacenamiento, así como en la heterogeneidad de la muestra.

Se desarrolló un algoritmo que, en base a la expresión de estos 21 genes, calcula el resultado Recurrence Score® (RS), que es individualizado para cada paciente y tiene un valor dentro del rango de 0 a 100. Permite estratificar a las pacientes en tres niveles de riesgo de recidiva: riesgo bajo, intermedio o alto, según sea el valor RS <18, entre 18 y 30 y ≥31, respectivamente.

▼ Justificación científica de los genes del panel.

El test analiza la expresión de 16 genes relacionados con el cáncer de mama que presentaban una mayor correlación con el intervalo libre de recidiva de forma consistente entre las poblaciones de los estudios de desarrollo del test **Fig. 23.2**²⁻⁴ Véase pág. 165. También analiza 5 genes de referencia para normalizar la expresión de los genes relacionados con el cáncer.

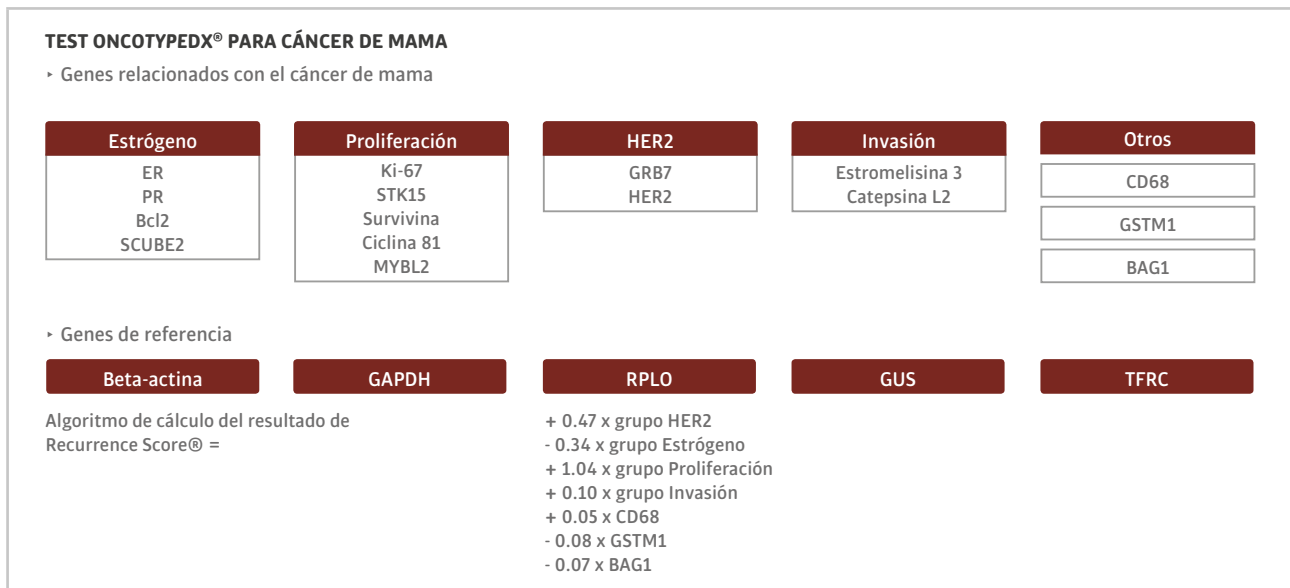


Figura 23.2. Test OncotypeDx®: Panel de 21 genes y algoritmo de cálculo del resultado de Recurrence Score®. Adaptado de Paik et al. N Engl J Med. 2004¹.

▼ Estudios de validación. Evidencia clínica.

A diferencia de otros test genómicos, OncotypeDx® ha sido validado de forma independiente en poblaciones homogéneas de pacientes con ganglios negativos y con ganglios positivos, proporcionando informes diferenciados. Sin necesidad de incorporar otros factores clínicos y patológicos al resultado del test, la quimioterapia adyuvante está indicada en pacientes con RS alto, y no está indicada en pacientes con RS bajo⁵.

El test fue desarrollado en tres estudios que incluyeron a pacientes con receptor de estrógeno (RE) positivo y ha sido validado para predecir el riesgo de recidiva a distancia a 10 años, en pacientes con cáncer de mama tratadas con 5 años de terapia hormonal^{1,6-13}. Se ha demostrado que el resultado RS tiene valor pronóstico tanto en pacientes tratadas con tamoxifeno^{7,9-11} como con inhibidores de la aromatasa¹⁰.

Se ha demostrado en dos estudios aleatorizados que el resultado RS es, además, un factor predictivo de la probabilidad de beneficio de la quimioterapia en pacientes con ganglios negativos⁶ y con ganglios positivos⁹. El test OncotypeDx® es, hasta la fecha, la única plataforma genómica predictiva del beneficio de la quimioterapia en esta indicación pues, en dichos estudios, el test para interacción entre el RS y el tratamiento quimioterápico fue estadísticamente

significativo ($p=0,038$ en pacientes sin afectación ganglionar y $p=0,029$ para pacientes con ganglios positivos). Otros tres estudios valoraban el test OncotypeDx® en pacientes tratadas con regímenes que incluían antraciclinas y/o taxanos,^{8,12-13} observándose que no había beneficio de los regímenes con taxano en las pacientes con un RS bajo.

Se han publicado resultados prospectivos de dos estudios con nivel de evidencia IA, los estudios Trial Assigning Individualized Options for Treatment (TAILORx) y PlanB, así como resultados de seguimiento prospectivo de dos grandes registros. Todos ellos presentan resultados consistentes que validan la utilidad del test utilizando regímenes de quimioterapia actuales¹⁴.

El estudio TAILORx valora la no-inferioridad de la hormonoterapia sola frente al tratamiento combinado con quimioterapia en pacientes con RS 11-25. Para evitar el infratratamiento, se establecieron en este estudio puntos de corte más bajos para las categorías de riesgo que los definidos prospectivamente en los estudios de validación iniciales. Así, se consideró el límite superior de los intervalos de confianza del 95% para el riesgo de recidiva a 10 años, en vez de las medias de cada valor RS. Han sido publicados los resultados de las pacientes con RS<11 tratadas sólo con hormonoterapia, las cuales presentaron un resultado clínico excelente (supervivencia libre de recidiva a distancia: 99,3%)¹⁵.

Se está a la espera de los resultados del grupo aleatorizado con RS 11-25. En el estudio en fase III PlanB del West German Study Group (WSG), tras una enmienda al inicio del estudio, las pacientes con cáncer de mama con receptores hormonales positivos y características de alto riesgo clínico (NO o N1) y RS \leq 11 recibían sólo hormonoterapia. La supervivencia libre de enfermedad a 5 años para estas pacientes era del 94%, similar a la observada en las pacientes con RS 12-25, que todas eran asignadas a un régimen de quimioterapia^{16,17}. Estos resultados son consistentes con los publicados para la rama de RS $<$ 11 del estudio TAILORx.

Se conocen también los resultados de dos estudios de seguimiento prospectivo que analizan a grandes cohortes de pacientes cuyo tratamiento adyuvante se decidió en base al resultado RS. El primer estudio se ha realizado en 38.568 pacientes con enfermedad NO, RE+, HER2-negativo incluidas en el registro Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER)¹⁸. Demostró excelentes resultados en las pacientes con bajo RS [mortalidad específica por cáncer de mama (MECM) a 5 años del 0,4%]. En las pacientes con RS intermedio o alto, en las que el uso de quimioterapia era más frecuente, la MECM a 5 años era del 1,4% y 4,4%, respectivamente. El segundo estudio analiza 2.028 pacientes con ganglios negativos o con micrometástasis incluidas en un registro israelí, también tratadas en adyuvancia considerando el resultado RS¹⁹. Con una mediana de seguimiento de 6,1 años, la tasa de recidiva a distancia a 5 años fue del 0,8%, 3,2%, y 10,6%, y la tasa de MECM a 5 años del 0,0%, 1,1% y 6,8% para los grupos de RS bajo, intermedio y alto, respectivamente.

En población con ganglios positivos, se ha realizado un análisis en 6.768 pacientes incluidas en el registro SEER²⁰. En conjunto, la MECM a 5 años es excelente para pacientes con RS $<$ 18 y micrometástasis, 1 o 2 ganglios positivos. Se está a la espera de los resultados del estudio en fase III Rx for Positive Node Endocrine Responsive breast cancer (RxPONDER)²¹. Este estudio valora la no-inferioridad de la hormonoterapia sola frente al tratamiento con quimioterapia en pacientes con 1 a 3 ganglios positivos y RS \leq 25.

Un estudio ha evaluado si el RS predice el riesgo de recidiva a distancia tardía (5-15 años) en pacientes con tumores con alta expresión del RE $>$ 9,1 C_T²².

Los grupos RS mostraron una asociación estadísticamente significativa con la recidiva tardía a distancia (log rank p=0.01). Los autores concluyen que estos resultados sugieren que el tratamiento endocrino prolongado más allá de 5 años, puede ser beneficioso en pacientes con RS intermedio o alto y mayor expresión cuantitativa del RE.

Se ha demostrado de forma consistente en análisis multivariados que el test OncotypeDx[®] proporciona información adicional diferente de los factores clínicopatológicos convencionales^{1,7,10,11}.

Un meta-análisis de 4 estudios europeos de impacto en la decisión de tratamiento²³, que incluye a un estudio prospectivo de GEICAM²⁴, ha demostrado que el RS cambia la recomendación de tratamiento adyuvante en un 32% de las pacientes (527 pacientes). Este resultado es consistente con otros estudios en pacientes con ganglios negativos y positivos. Estudios farmacoeconómicos han reportado de forma consistente que el test puede ahorrar costes a diversos sistemas de salud. Estos ahorros son debidos, fundamentalmente, a la menor utilización de quimioterapia²⁵⁻³².

Comparativas con otras plataformas: El estudio OPTIMA compara la estratificación por riesgo de 313 pacientes de acuerdo con los test OncotypeDx[®], MammaPrint[®], Prosigna[®], IHC4[®] e IHC4-Aqua^{®33}. OncotypeDx[®] identificó a una mayor proporción de tumores como de bajo riesgo (82,1%) que el resto de plataformas (Prosigna[®] 65,5%, MammaPrint[®] 61,4%, IHC4[®] 72,0%, IHC4-Aqua[®] 61,6%). Sólo el 39,4% de los tumores fueron clasificados uniformemente como riesgo bajo/intermedio o riesgo alto por todas las plataformas. Se observó que la concordancia por categorías de riesgo entre los test era moderada, de acuerdo con el test estadístico Kappa. Se han realizado comparaciones entre OncotypeDx[®] y MammaPrint^{®34-36}, Prosigna^{®37-38} y EndoPredict^{®40}, cuyos resultados sugieren que estos test no son intercambiables.

► Guías de recomendación de tratamiento:

En base a la gran evidencia clínica, incluyendo estudios de nivel IA y IB, el test OncotypeDx[®] ha sido incorporado en múltiples guías de recomendación de tratamiento, incluyendo SEOM, ESMO, St. Gallen, NICE, ASCO y NCCN^{5,41-45}. Es la única plataforma genómica para cáncer de mama incorporada con

nivel de evidencia I en el Manual de Estadaje del Cáncer del American Joint Committee on Cancer (8ª ed.) para asignación del grupo de estadio pronóstico⁴⁶. De acuerdo con este manual, se asigna un grupo de estadio pronóstico IA a las pacientes RE+, HER2-negativo, NO, MO, con tumor <5 centímetros, grado histológico 1 a 3, con resultado RS <11.

▼ Indicaciones actuales demostradas.

El test OncotypeDx[®] para cáncer de mama está indicado para la toma de decisión del tratamiento adyuvante en pacientes con cáncer de mama en estados iniciales, receptor de estrógeno positivo, HER2-negativo, pre- y postmenopáusicas, tanto con ganglios negativos como de uno a tres ganglios positivos. Es, hasta la fecha, la única plataforma genómica validada como factor predictivo del beneficio de la quimioterapia. En conjunción con el nivel de expresión del receptor de estrógeno por RT-PCR, el test identifica a las pacientes con mayor riesgo de recidiva tardía para las cuales se podría considerar un tratamiento hormonal prolongado a 10 años.

Existe evidencia de la utilidad del test para la toma de decisión del tratamiento neoadyuvante en estudios cuyos resultados son consistentes con los de los estudios en adyuvancia y que incluyen, en conjunto, a 564 pacientes⁴⁷⁻⁵³. Un resultado RS bajo se correlaciona con beneficio del tratamiento endocrino, mientras que un RS alto se correlaciona con mayor beneficio de la quimioterapia neoadyuvante.

▼ Perspectivas de futuro.

El test OncotypeDx[®] DCIS es el primer test genómico validado clínicamente y comercializado para mujeres con carcinoma *in situ* de la mama. Mediante el análisis de expresión de 12 genes y el cálculo del resultado DCIS Score[®], el test cuantifica el riesgo de recidiva local o invasiva a 10 años. Ha sido validado clínicamente mediante dos estudios que incluyeron a 898 pacientes^{54,55}. Este test permite identificar a un amplio grupo de pacientes que presentan un riesgo muy bajo y para las que puede plantearse si la radioterapia aporta un beneficio. Se ha demostrado su utilidad clínica en un estudio en el que se observó un 31% de cambio en la decisión de tratamiento⁵⁶. Estudios farmacoeconómicos indican que el test es coste-efectivo^{57,58}.

☒ Bibliografía:

1. Paik S, Shak S, Tang G, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med*. 2004;351(27):2817-26.
2. Paik S, Shak S, Tang G, et al. Multi-gene RT-PCR assay for predicting recurrence in node negative breast cancer patients – NSABP studies B-20 and B-14. *Breast Cancer Res Treat* 2003;82:Abstract A16.
3. Cobleigh MA, Bitterman P, Baker J, et al. Tumor gene expression predicts distant disease-free survival (DDFS) in breast cancer patients with 10 or more positive nodes: high throughput RT-PCR assay of paraffin-embedded tumor tissues. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 2003;22:A3466.
4. Esteban J, Baker J, Cronin M, et al. Tumor gene expression and prognosis in breast cancer: multi-gene RT-PCR assay of paraffin-embedded tissue. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 2003;22:A3416.
5. Harris LN, Ismaila N, McShane LM, et al. Use of Biomarkers to guide decisions on adjuvant systemic therapy for women with early-stage invasive breast cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol*. 2016;34(10):1134-50.
6. Paik S, Tang G, Shak S, et al. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol*. 2006;24(23):3726-34.
7. Habel LA, Shak S, Jacobs MK, et al. A population-based study of tumor gene expression and risk of breast cancer death among lymph node-negative patients. *Breast Cancer Res*. 2006;8(3):R25.
8. Goldstein LJ, Gray R, Badve S, et al. Prognostic utility of the 21-gene assay in hormone receptor-positive operable breast cancer compared with classical clinicopathologic features. *J Clin Oncol*. 2008;26(25):4063-71.
9. Albain KS, Barlow WE, Shak S, et al; Breast Cancer Intergroup of North America. Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal women with node-positive, oestrogen-receptor-positive breast cancer on chemotherapy: a retrospective analysis of a randomised trial. *Lancet Oncol*. 2010;11(1):55-65.
10. Dowsett M, Cuzick J, Wale C, et al. Prediction of risk of distant recurrence using the 21-gene recurrence score in node-negative and node-positive postmenopausal patients with breast cancer treated with anastrozole or tamoxifen: a TransATAC study. *J Clin Oncol*. 2010;28(11):1829-34.
11. Toi M, Iwata H, Yamanaka T, et al. Clinical significance of the 21-gene signature (OncotypeDx[®]) in hormone receptor-positive early stage primary breast cancer in the Japanese population. *Cancer*. 2010;116(13):3112-8.
12. Mamounas EP, Tang G, Paik S, et al. Prognostic impact of the 21-gene recurrence score (RS) on disease-free and overall survival of node-positive, ER-positive breast cancer patients (pts) treated with adjuvant chemotherapy: Results from NSABP B-28. *J Clin Oncol* 30, 2012 (suppl 27;abstr 1).
13. Penault-Llorca FM, Filleron T, Asselain B, et al. Prediction of recurrence with the OncotypeDx[®] recurrence score in node-positive, HR-positive, breast cancer patients treated with adjuvant chemotherapy: Results from PACSO1 trial. *J Clin Oncol* 2014;32:15 suppl: abstr 11052.
14. Hudis CA, Dickler M. Increasing Precision in adjuvant therapy for breast cancer. *N Engl J Med*. 2016;375(8):790-1.
15. Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, et al. Prospective validation of a 21-gene expression assay in breast cancer. *N Engl J Med*. 2015;373(21):2005-14.
16. Gluz O, Nitz UA, Christgen M, et al. West German Study Group Phase III PlanB Trial: First prospective outcome data for the 21-gene recurrence score assay and concordance of prognostic markers by central and local pathology assessment. *J Clin Oncol*. 2016;34(20):2341-9.
17. Gluz O, Nitz UA, Christgen M, et al. Prognostic impact of 21-gene Recurrence Score, IHC4, and central grade in high-risk HR+/HER2- early breast cancer (EBC): 5-year results of the prospective Phase III WSG PlanB trial. *J Clin Oncol* 2016;15 suppl:556.
18. Petkov V, Miller DP, Howlander N, et al. Breast-cancer-specific mortality in patients treated based on the 21-gene assay: a SEER population-based study. *NPJ Breast Cancer* 2016;2:16017.
19. Stemmer SM, Steiner M, Rizel S, et al. Real-life analysis evaluating 1594 NO/ Nmic breast cancer patients for whom treatment decisions incorporated the 21-gene Recurrence Score result: 5-year KM estimate for breast cancer specific survival with Recurrence Score results >30 is >98%. *Cancer Res* 2016;76 (4 suppl):P5-08-02.

20. Roberts MC, Miller DP, Shak S, et al. Breast cancer-specific survival in patients with lymph node-positive hormone receptor-positive invasive breast cancer and OncotypeDx[®] Recurrence Score results in the SEER database. *Breast Cancer Res Treat.* 2017; 163(2):303-10.
21. Tamoxifen citrate, letrozole, anastrozole, or exemestano wtir or without chemotherapy in treating patients with invasive RxPONDER breast cancer. Available at: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01272037>
22. Wolmark N, Mamounas EP, Baehner FL, et al. Prognostic Impact of the Combination of Recurrence Score and Quantitative Estrogen Receptor Expression (ESR1) on Predicting Late Distant Recurrence Risk in Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer After 5 Years of Tamoxifen: Results From NRG Oncology/National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-28 and B-14. *J Clin Oncol.* 2016;34(20):2350-8.
23. Albanell J, Svedman C, Gligorov J, et al. Pooled analysis of prospective European studies assessing the impact of using the 21-gene Recurrence Score assay on clinical decision making in women with oestrogen receptor-positive, human epidermal growth factor receptor 2-negative early-stage breast cancer. *Eur J Cancer.* 2016;66:104-13.
24. Albanell J, González A, Ruiz-Borrego M, et al. Prospective transGEICAM study of the impact of the 21-gene Recurrence Score assay and traditional clinicopathological factors on adjuvant clinical decision making in women with estrogen receptor-positive (ER+) node-negative breast cancer. *Ann Oncol.* 2012;23(3):625-31.
25. Smyth L, Watson G, Walsh EM, et al. Economic impact of 21-gene Recurrence Score testing on early-stage breast cancer in Ireland. *Breast Cancer Res Treat.* 2015;153(3):573-82.
26. Bacchi CE, Prisco F, Carvalho FM, et al. Potential economic impact of the 21-gene expression assay on the treatment of breast cancer in Brazil. *Rev Assoc Med Bras.* 2010;56(2):186-91.
27. Falahee M, Ercoli K, Plun-Favreau J. Retrospective budget impact analysis on the use of the OncotypeDx[®] test in Ireland. *St. Gallen International Breast Cancer Conference 2013*; P281.
28. Hassan S, Mittmann N. A cost benefit analysis of the 21-gene breast cancer assay within a Canadian health care system. *J Clin Oncol.* 2011;29(15 suppl):Abstract 6111.
29. Lacey L, Chien R, Hornberger J. Cost-utility of the 21-gene breast cancer assay (OncotypeDx[®]) in the Irish healthcare setting. *San Antonio Breast Cancer Symposium*; 2011. *Cancer Res* 2011;71(34) suppl:abstract P110-04.
30. Ragaz J, Wilson KS, Wong H, et al. Molecular classification with 21-gene assay (OncotypeDx[®]) shows in 196,967 ER-positive patients high frequency of low Recurrence Score (LRS) in both node positive and negative breast cancer cohorts: Definition of chemoresistance based on LRS with cost and guideline implications. *Cancer Research.* 2011;71(24 Supplement):PD06-01.
31. Wilson E, McDonnell D, Gullo G, et al. Economic impact of OncotypeDx[®] assay in axillary node negative breast cancer, with positive hormone receptor and normal HER2. *Ann Oncol.* 2010;21(suppl 8):viii81.
32. Toribio MG, Mar J, Galve E, et al. Budget impact analysis of the 21-gene assay (OncotypeDx[®] breast cancer) for the breast cancer treatment in the Basque Country. *Ann Oncol* 2016;27 (suppl 6):181P
33. Bartlett JM, Bayani J, Marshall A, et al.; OPTIMA TMG. Comparing Breast Cancer Multiparameter Tests in the OPTIMA Prelim Trial: No Test Is More Equal Than the Others. *J Natl Cancer Inst.* 2016;108(9):Pii: djw050
34. Clough KB, Poulet B, Jamshidian F, et al. Risk classification of early stage breast cancer as assessed by MammaPrint[®] and OncotypeDx[®] genomic assays. Presented at: San Antonio Breast Cancer Symposium (SABCS) 2012. *Cancer Res* 2012;72(24) suppl:abstract P6-07-03.
35. Shivers SC, Clark L, Esposito N, et al. Direct comparison of risk classification between MammaPrint[®], OncotypeDx[®] and MammoStrat[®] assays in patients with early stage breast cancer. Presented at San Antonio Breast Cancer Symposium (SABCS). 2013. *Cancer Res* 2013;73(24) suppl. Abstract P6-06-02.
36. Denduluri N, Rugo HS, Davis SE, et al. Concordance between the 21-gene Recurrence Score (RS) and the 70-gene profile (MP) in breast cancer (BC) patients (pts). *J Clin Oncol* 2011;29(27 suppl):13.
37. Dowsett M, Sestak I, Lopez-Knowles E, et al. Comparison of PAM50 risk of Recurrence Score with OncotypeDx[®] and IHC4 for predicting risk of distant recurrence after endocrine therapy. *J Clin Oncol* 2013;31(22):2783-90.
38. Alvarado MD, Prasad C, Rothney M, et al. A prospective comparison of the 21-gene Recurrence Score and the PAM50-based Prosigna in estrogen receptor-positive early-stage breast cancer. *Adv Ther* 2015;32(12):1237-47.
39. Kelly CM, Bernard PS, Krishnamurthy S, et al. Agreement in risk prediction between the 21-gene Recurrence Score assay (OncotypeDx[®]) and the PAM50 breast cancer intrinsic classifierTNM in early-stage estrogen receptor-positive breast cancer. *Oncologist* 2012;17(4):492-8.
40. Varga Z, Sinn P, Fritzsche F, et al. Comparison of EndoPredict[®] and OncotypeDx[®] test results in hormone receptor positive invasive breast cancer. *PLoS One* 2013;8(3):e58483
41. Garcia-Saenz JA, Bermejo B, Estevez LG, et al. SEOM clinical guidelines in early-stage breast cancer 2015. *Clin Transl Oncol.* 2015;17(12):939-45.
42. Senkus E, Kyriakides S, Ohno S, et al. Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2015 Sep;26 Suppl 5:v8-30.
43. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, et al. Tailoring therapies--improving the management of early breast cancer: St Gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2015. *Ann Oncol.* 2015;26(8):1533-46.
44. NICE. Diagnostic guidance document. Gene expression profiling and expanded immunohistochemistry tests for guiding adjuvant chemotherapy decisions in early breast cancer management: MammaPrint[®], OncotypeDx[®], IHC4 and Mammostrat. Published 2013. Available at: nice.org.uk/guidance/dg10.
45. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Breast Cancer, v.2.2016.
46. Hortobagyi, G.N. et al. Breast. In: Amin M.B, Edge S, Greene F (eds.) *AJCC Cancer Staging Manual.* Illinois: Springer International Publishing; 2017. p.589-628. ISBN 978-3-319-40617-6.
47. Bear HD, Wan W, Robidoux A, et al. Using the 21-gene assay from core needle biopsies to choose neoadjuvant therapy for breast cancer: A multi-center trial. *J surg Oncol* 2017;115(8):917-23.
48. Gianni L, Zambetti M, Clark K, et al. Gene expression profiles in paraffin-embedded core biopsy tissue predict response to chemotherapy in women with locally advanced breast cancer. *J Clin Oncol.* 2005;23(29):7265-77.
49. Chang J, Makris A, Gutierrez MC, et al. Gene expression patterns in formalin-fixed, paraffin-embedded core biopsies predict docetaxel chemosensitivity in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 2008;108(2):233-40.
50. Yardley DA, Peacock NW, Shastry M, et al. A phase II trial of ixabepilone and cyclophosphamide as neoadjuvant therapy for patients with HER2-negative breast cancer: correlation of pathologic complete response with the 21-gene recurrence score. *Breast Cancer Res Treat.* 2015;154(2):299-308.
51. Akashi-Tanaka S, Shimizu C, Ando M, et al. 21-Gene expression profile assay on core needle biopsies predicts responses to neoadjuvant endocrine therapy in breast cancer patients. *Breast.* 2009;18(3):171-4.
52. Ueno T, Masuda N, Yamanaka T, et al. Evaluating the 21-gene assay Recurrence Score[®] as a predictor of clinical response to 24 weeks of neoadjuvant exemestane in estrogen receptor-positive breast cancer. *Int J Clin Oncol.* 2014;19(4):607-13.
53. Zelnak AB, Murali S, Styblo TM, et al. Phase II trial evaluating the use of 21-gene recurrence score (RS) to select preoperative therapy in hormone receptor (HR)-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2013;31(suppl):abstr 562.
54. Solin LJ, Gray R, Baehner FL, et al. A multigene expression assay to predict local recurrence risk for ductal carcinoma in situ of the breast. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(10):701-10.
55. Rakovitch E, Nofech-Mozes S, Hanna W, et al. A population-based validation study of the DCIS Score predicting recurrence risk in individuals treated by breast-conserving surgery alone. *Breast Cancer Res Treat.* 2015;152(2):389-98.
56. Alvarado M, Carter DL, Guenther JM, et al. The impact of genomic testing on the recommendation for radiation therapy in patients with ductal carcinoma in situ: A prospective clinical utility assessment of the 12-gene DCIS score[™] result. *J Surg Oncol.* 2015;111(8):935-40.
57. Young R, Kalnicki S, Fox JL, et al. The DCIS Score - Potential for healthcare savings? *J Clin Oncol* 2014;32(suppl 26):35.
58. Alvarado M, Harrison B, Howe R, et al. Cost-effectiveness of gene expression profiling for DCIS. *Cancer Res* 2012;72(24 suppl):abstract P5-15-01.

3. Test EndoPredict®.

Alberto Peláez García, David Hardisson Hernández.

▼ Descripción técnica del test.

EndoPredict® es un perfil de expresión génica diseñado para predecir el riesgo de metástasis a distancia a 10 años en pacientes con cáncer de mama RE+/HER2- tratadas únicamente con terapia endocrina. El test mide los niveles de expresión de ARN de 8 genes relacionados con cáncer y tres genes de referencia mediante RT-PCR cuantitativa a partir de tejido tumoral fijado en formol e incluido en parafina y calcula un índice de riesgo molecular denominado EP1. La puntuación EP tiene un rango de valores entre 0 y 15, siendo el 5 el punto de corte que permite discriminar dicotómicamente entre las categorías de bajo y alto riesgo de metástasis a distancia. Además, la combinación de dos variables clínico-patológicas (tamaño del tumor y estado ganglionar) con el índice EP permite establecer un índice EP clínico (EP-clin)¹ (Fig. 23.3). El test está validado con idéntico rendimiento tanto en muestras procedentes de piezas quirúrgicas como de biopsias con aguja gruesa (BAG), mostrando que el método de obtención no afecta al resultado final². EndoPredict® puede realizarse de forma descentralizada en el laboratorio de patología molecular del servicio de anatomía patológica sin que sea necesario remitir la muestra fuera del centro.

▼ Justificación científica de los genes del panel.

Para la selección de los genes incluidos en el panel se realizó un análisis “top-down” de los datos de expresión génica obtenidos mediante microarrays en pacientes de cáncer de mama RE+/HER2-^{1,3}. Se realizaron filtrados secuenciales de los datos para reducir el número de genes con capacidad predictiva y permitir la obtención de un algoritmo final más robusto. El primer filtrado se basó en la calidad de las sondas presentes en el microarray con variaciones en sus niveles de expresión. Tras el filtrado de calidad, se eliminaron genes que presentaban niveles de expresión o un rango dinámico bajos. A continuación, se seleccionaron aquellos genes que estaban significativamente relacionados con el pronóstico de pacientes mediante análisis por regresión de Cox, y con los genes resultantes se realizaron análisis de agrupamientos no supervisados y de componentes principales. Finalmente, se determinó la asociación entre los genes individuales seleccionados y las características clínicas de las pacientes. Tras estos filtrados, se obtuvieron 104 genes candidatos. Tras ser analizados mediante RT-qPCR, 63 genes mostraron una alta correlación entre los datos obtenidos en las plataformas de microarrays y RT-qPCR. El panel final con mayor capacidad pronóstica y fiabilidad en la RT-qPCR quedó formado por 8 genes (BIRC5, UBE2C, DHCR7, RBBP8, IL6ST, AZGP1, MGP y STC2) y 4 genes control (CALM2, OAZ1, RPL37A y HBB).

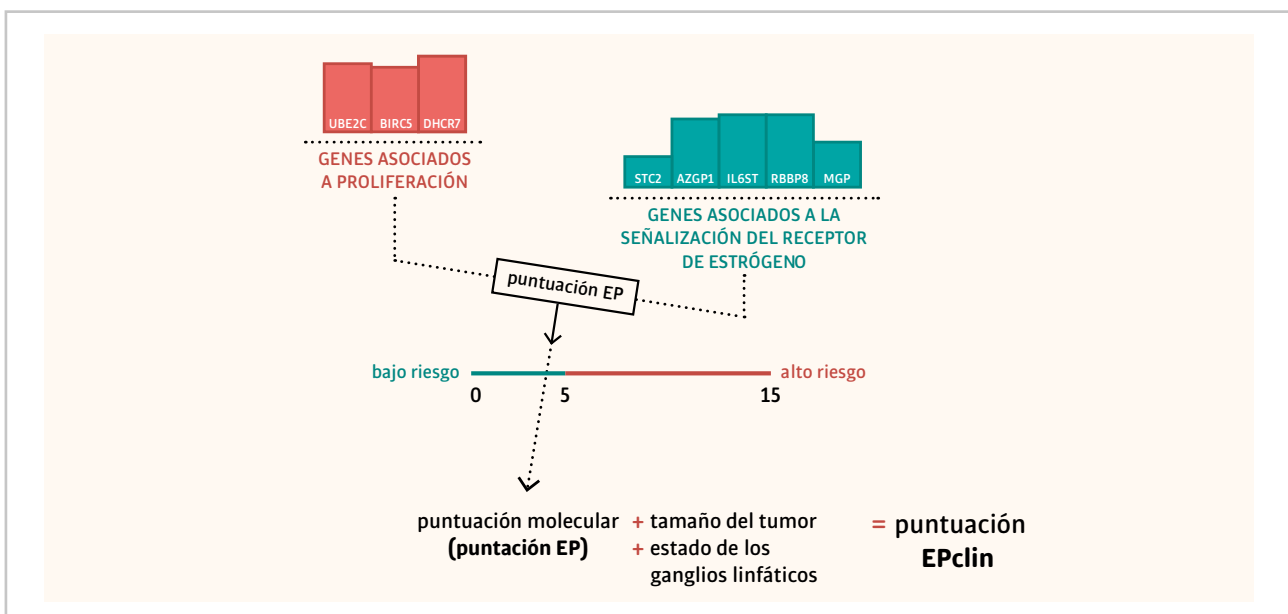


Figura 23.3. Diagrama de la estimación de los índices EP y EPclin (reproducido con permiso de Myriad Genetics).

Estos 8 genes están implicados en procesos de proliferación celular, apoptosis, reparación del ADN y adhesión celular. Estos genes están, a su vez, co-regulados por genes involucrados en dos procesos biológicos que contribuyen al riesgo de recidiva en cáncer de mama: proliferación (BIRC5, UBE2C, DHCR7) y señalización mediada por el receptor de estrógeno (RBBP8, IL6ST, AZGP1, MGP y STC2)⁴.

▼ Estudios de validación. Evidencia clínica.

Para la validación técnica de EndoPredict® se realizaron tanto análisis de reproducibilidad del test como de posibles factores que pudiesen alterar los resultados del mismo: límites de detección, rango lineal entre la concentración de la muestra y los valores obtenidos de EP y rango de ARN necesario para el análisis⁵. La reproducibilidad y fiabilidad del test se demostró en un estudio comparativo entre siete laboratorios diferentes utilizando la misma instrumentación y reactivos tanto para la extracción de ARN como para la RT-qPCR; se obtuvo una concordancia del 100% en relación a las categorías de riesgo (alto y bajo riesgo) en los 10 tumores estudiados con diferencias en los valores de EP inferiores a 1 respecto al valor de referencia predefinido⁶. Para determinar cómo las condiciones preanalíticas pueden alterar los resultados se analizaron parámetros que afectan la calidad del ARN, como el tiempo o la temperatura de almacenamiento de la muestra hasta su fijación, el tiempo de fijación, el contenido tumoral de la muestra o el tiempo de almacenamiento del ARN extraído, no evidenciándose diferencias en el resultado de la prueba debidas a estas variables⁴.

La validación clínica de EndoPredict® se realizó de forma retrospectiva utilizando una cohorte de 1.702 pacientes postmenopáusicas con cáncer de mama RE+/HER2-, con ganglios negativos o positivos, tratadas con terapia endocrina, incluidas en los ensayos ABCSG-6 (únicamente tamoxifeno) y ABCSG-8 (tamoxifeno 5 años o tamoxifeno 2 años seguido de anastrozol)¹. EP clasificó aproximadamente a la mitad de las pacientes como de bajo riesgo, con un riesgo de recidiva a los 10 años del 8% en el ensayo ABCSG-6 y del 6% en el ensayo ABCSG-8, que excluyó a las pacientes con carcinomas grado 3 de acuerdo al diseño original del estudio.

El riesgo de recidiva a 10 años para las pacientes clasificadas de alto riesgo por la puntuación EP fue del 22% y del 15%, respectivamente. Además, en este estudio se demostró el valor discriminatorio de la puntuación EP cuando analiza el valor pronóstico en diferentes subgrupos de alto y bajo riesgo, definidos por características clínico-patológicas (tamaño tumoral, grado histológico, índice de proliferación celular valorado con Ki67 y categoría de riesgo por Adjuvant!Online). Recientemente, se han desarrollado estudios de validación de EndoPredict® en diferentes contextos clínicos: pacientes pre y postmenopáusicas con cáncer de mama RE+/HER2- y metástasis en al menos 1 ganglio linfático tratadas con dos regímenes de quimioterapia (ensayo GEICAM/9906)⁷; valor predictivo de respuesta patológica completa en pacientes con cáncer de mama RE+/HER2- tratadas con quimioterapia neoadyuvante basada en antraciclina⁸ o el estudio comparativo del valor predictivo de recidiva tumoral entre OncotypeDx® y EndoPredict® en pacientes postmenopáusicas con cáncer de mama tratado con hormonoterapia⁹ **Tabla 23.I** Véase pág. 171. Estos estudios demuestran un rendimiento superior del índice EPclin debido a la inclusión de variables clínico-patológicas (tamaño tumoral y estadio ganglionar) que mejoran la predicción del riesgo de metástasis en estas pacientes.

▼ Indicaciones actuales demostradas.

EndoPredict® ha sido incluido en la última guía sobre cáncer de mama publicada por la Sociedad Europea de Oncología Médica (ESMO) como test de segunda generación con valor pronóstico y predictivo en pacientes con cáncer de mama RE+/HER2- (nivel de evidencia IV, nivel de recomendación A)¹⁰. También está recomendado por el Grupo Alemán de Ginecología Oncológica (AGO) como test pronóstico con un nivel de evidencia IB¹¹ y, en una revisión reciente¹², ha sido clasificado con un nivel de evidencia I de acuerdo a los criterios definidos por Simon y cols¹³. para la evaluación de biomarcadores pronósticos y predictivos.

Estudio	Características	Objetivo	Conclusiones
› Filipits et al. (2011) ¹	964 pacientes con cáncer de mama ER+/HER2- en estadios iniciales con tratamiento hormonal adyuvante únicamente con tamoxifeno.	Desarrollo matemático de los índices EP y EPclin.	En los análisis multivalentes se observó que EP junto con la afectación ganglionar y el tamaño de tumor eran los factores que contribuían de manera significativa en la predicción de la recurrencia a distancia (EPclin).
› Dubsky et al. (2013) ¹⁵	1.702 mujeres postmenopáusicas con cáncer de mama ER+/HER2- en estadios iniciales procedentes de los ensayos ABCSG-6 y ABCSG-8.	Validar la capacidad predictiva de EP mediante la clasificación en alto o bajo riesgo y analizar la recurrencia mediante análisis de Kaplan-Meier.	Se verifica el valor pronóstico para la recurrencia a distancia tanto a 5 como a 10 años. Los análisis de diferentes combinaciones de factores de riesgo clínico-patológicos y los índices EP y EPclin demostraron que el EPclin presentaba el índice c más alto.
› Martin et al. (2014) ⁷	800 pacientes con cáncer de mama ER+/HER2- tratadas con quimioterapia adyuvante seguida de terapia hormonal (Ensayo GEICAM/9906).	Validación clínica del carácter pronóstico de los índices EP y EPclin en mujeres con cáncer de mama ER+/HER2- en estadios tempranos con afectación ganglionar.	Las pacientes clasificadas en el grupo de bajo riesgo según los índices EP y EPclin mostraron una supervivencia libre de recurrencia y una supervivencia global mayor que las de alto riesgo.
› Bertucci et al. (2014) ⁸	553 mujeres con cáncer de mama ER+/HER2- en estadios iniciales tratadas con quimioterapia neoadyuvante con antraciclinas.	Valorar el carácter predictivo de los índices EP y EPclin en la respuesta al tratamiento con quimioterapia neoadyuvante.	Al valorar la respuesta al tratamiento con quimioterapia neoadyuvante con antraciclinas en los dos grupos de riesgo EP se observó una correlación entre el índice EP y la respuesta al tratamiento.
› Buus et al. (2016) ⁹	928 pacientes con cáncer de mama ER+/HER2- tratadas durante cinco años con anastrozol o tamoxifeno.	Valorar el valor pronóstico de EP y EPclin en la recurrencia en mujeres postmenopáusicas y comparar su capacidad pronóstica con el test OncotypeDx®.	Se confirma el valor pronóstico de EP y EPclin. EPclin realiza mejores predicciones que EP y OncotypeDx® para recurrencias entre 5 y 10 años debido a la inclusión de variables clínicas.

Tabla 23.1. Estudios de validación clínica para EndoPredict®.

▼ Perspectivas de futuro.

El mejor conocimiento sobre el diagnóstico y el tratamiento en cáncer de mama ha impulsado el desarrollo de nuevos test genéticos con valor pronóstico y predictivo. Estos test clasifican de forma similar a las pacientes con cáncer de mama en categorías de riesgo aunque existen diferencias importantes entre los diferentes perfiles a nivel individual¹⁴. Los estudios más recientes indican que la inclusión de variables clínico-patológicas, como el tamaño tumoral y el estado de los ganglios linfáticos, tal y como ocurre en el índice EPclin, mejora la capacidad pronóstica de estos ensayos⁷.

Así mismo, se ha comprobado que estos test pueden aportar información relevante en la toma de decisiones terapéuticas en el ámbito de la neoadyuvancia, identificando de antemano a las pacientes que no responderán a la misma. En esta línea, actualmente se está llevando a cabo el estudio prospectivo ABCSG-34, para predecir la respuesta a quimioterapia neoadyuvante en más de 400 pacientes con un seguimiento de más de 40 meses.

Bibliografía:

1. Filipits M, Rudas M, Jakesz R, et al. A new molecular predictor of distant recurrence in ER-positive, HER2-negative breast cancer adds independent information to conventional clinical risk factors. *Clin Cancer Res.* 2011;17(18):6012-20.
2. Muller BM, Brase JC, Haufe F, et al. Comparison of the RNA-based EndoPredict® multigene test between core biopsies and corresponding surgical breast cancer sections. *J Clin Pathol.* 2012;65(7):660-2.
3. Brase J, Kronenwett R, Petry C, et al. From High-Throughput Microarray-Based Screening to Clinical Application: The Development of a Second Generation Multigene Test for Breast Cancer Prognosis. *Microarrays.* 2013;2(3):243-64.
4. Müller BM, Kronenwett R, Hennig G, et al. Quantitative determination of estrogen receptor, progesterone receptor, and HER2 mRNA in formalin-fixed paraffin-embedded tissue—a new option for predictive biomarker assessment in breast cancer. *Diagn Mol Pathol.* 2011;20(1):1-10.
5. Kronenwett R, Bohmann K, Prinzler J, et al. Decentral gene expression analysis: analytical validation of the EndoPredict® genomic multianalyte breast cancer prognosis test. *BMC Cancer.* 2012;12:456.
6. Denkert C, Kronenwett R, Schlake W, et al. Decentral gene expression analysis for ER+/Her2- breast cancer: results of a proficiency testing program for the EndoPredict® assay. *Virchows Arch.* 2012;460(3):251-9.
7. Martin M, Brase JC, Ruiz A, et al. Prognostic ability of EndoPredict® compared to research-based versions of the PAM50 risk of recurrence (ROR) scores in node-positive, estrogen receptor-positive, and HER2-negative breast cancer. A GEICAM/9906 sub-study. *Breast Cancer Res Treat.* 2016;156(1):81-9.
8. Bertucci F, Finetti P, Viens P, et al. EndoPredict® predicts for the response to neoadjuvant chemotherapy in ER-positive, HER2-negative breast cancer. *Cancer Lett.* 2014;355(1):70-5.
9. Buus R, Sestak I, Kronenwett R, et al. Comparison of EndoPredict® and EPclin with OncotypeDx® recurrence score for prediction of risk of distant recurrence after endocrine therapy. *J Natl Cancer Inst.* 2016; 108(11): djw149.
10. Senkus E, Kyriakides S, Ohno S, et al. Primary breast cancer: ESMO Clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2015;26(Supplement 5):v8-30.
11. Guidelines of the AGO breast committee. 2015. <http://www.ago-online.de/en/guidelines-mamma/march-2015/>
12. Weigelt B, Reis-Filho JS, Swanton C. Genomic analyses to select patients for adjuvant chemotherapy: Trials and tribulations. *Ann Oncol.* 2012;23(suppl. 10):x211-8.
13. Simon RM, Paik S, Hayes DF. Use of archived specimens in evaluation of prognostic and predictive biomarkers. *J Natl Cancer Inst.* 2009;101(21):1446-52.
14. Bartlett JMS, Bayani J, Marshall A, et al. Comparing breast cancer multiparameter tests in the OPTIMA prelim trial: No test is more equal than the others. *J Natl Cancer Inst.* 2016;108(9):Pii:djw050.
15. Dubsky P, Brase JC, Jakesz R, et al. The EndoPredict® score provides prognostic information on late distant metastases in ER+/HER2- breast cancer patients. *Br J Cancer.* 2013;109(12):2959-64.

4. Test PAM50/PROSIGNA®

Aleix Prat Aparicio

▼ Descripción técnica del test.

Hace 15 años, el Profesor Charles M. Perou lideró un artículo seminal en la revista Nature donde se demostró por vez primera que el cáncer de mama podía ser dividido, gracias a la expresión simultánea de miles de genes, en 4 grandes entidades biológicas conocidas hoy en día como los subtipos intrínsecos (luminal A, luminal B, HER2-enriched y basal-like)¹. Desde entonces, múltiples estudios han evaluado las características moleculares de estas entidades, así como su valor pronóstico y predictivo². Entre ellos, destacar la caracterización molecular más importante que jamás se ha realizado en cáncer de mama, gracias al consorcio The Cancer Genome Atlas, que demostró que los 4 subtipos intrínsecos capturan la gran parte de la diversidad biológica del cáncer de mama³.

Ahora bien, las tecnologías de alto rendimiento como los microarrays o la secuenciación del ARN, no han alcanzado la práctica clínica diaria dado que requieren tejido fresco, importantes recursos y el resultado no se puede obtener en un tiempo corto. Por este motivo, el Prof. Perou junto a sus colaboradores, presentaron en el año 2009 un predictor basado en expresión génica de relativa fácil aplicabilidad clínica que identificara los subtipos intrínsecos. Conocido como el PAM50, este test mide la expresión 50 genes específicamente seleccionados porque pueden analizarse desde ARN obtenido de tejidos fijados en formalina y embebidos en parafinada. Cuando se comparó la habilidad del PAM50 para identificar los 4 subtipos versus la clasificación molecular de un microarray de ~2.000 genes desde ARN obtenido de tejido fresco, la precisión fue del 93%. Por lo tanto, midiendo 50 genes, el test nos ofrece una información similar a la proporcionada por ~2.000 genes.

Inicialmente, el test del PAM50 se diseñó para ser utilizado mediante la plataforma genómica de RT-qPCR. Aunque esta tecnología permitía una mayor aplicabilidad clínica que los microarrays, el test debía centralizarse en un solo laboratorio en USA. Ahora bien, en el año 2011, una nueva plataforma genómica de muy fácil aplicabilidad clínica entró en escena. Conocida como la tecnología nCounter (Nanostring Technolo-

gies Inc, Seattle, USA), esta plataforma permitía realizar tests basados en expresión génica desde ARN muy degradado, sin amplificar el ARN y obtener el resultado en 72 horas mediante un proceso prácticamente automatizado. Asimismo, esta plataforma permite realizar el test a nivel local. Por este motivo, el Prof. Perou y sus colaboradores licenciaron la patente del PAM50 a Nanostring Technologies, quién desarrolló, estandarizó y validó el PAM50 en el nCounter.

▼ Justificación científica de los genes del panel: Pronosis individualizada.

Aparte de la información puramente biológica proporcionada por el PAM50, el test ofrece información pronóstica individualizada para cada paciente. Este predictor, conocido como Risk of Recurrence (ROR), utiliza los mismos 50 genes pero, con un algoritmo distinto, calcula un score de 0 (mejor pronóstico) a 100 (peor pronóstico) puntos⁴⁻¹³. El ROR score se obtiene de 3 tipos distintos de información. Por un lado, información biológica puesto que se tiene en cuenta la “**distancia genómica**” de cada muestra a cada uno de los 4 subtipos prototípicos; por otro lado, la proliferación que se obtiene de calcular la media de expresión de los 18 genes proliferativos del PAM50; finalmente, se tiene en cuenta el tamaño tumoral (≤ 2 o > 2 cm). Cada una de estas variables se multiplica por unos coeficientes de supervivencia determinados, los cuales se obtuvieron de una cohorte independiente, puramente pronóstica, de pacientes pre y post-menopáusicas que fueron tratadas con tratamiento local pero sin ningún tratamiento adyuvante sistémico. Destacar que esta cohorte tenía una buena representación de todos los subtipos intrínsecos.

La afectación ganglionar axilar (0, 1-3 y ≥ 4 ganglios afectados) determina los puntos de corte del ROR score teniendo en cuenta, en todo momento, las siguientes definiciones de riesgo de recidiva a distancia a 10 años: riesgo bajo ($< 10\%$ de riesgo de recidiva); riesgo intermedio (10-20%) y riesgo alto ($> 20\%$). Así pues, se determinó que el punto de cohorte para definir bajo riesgo es de 40 puntos en ganglios axilares negativos y 15 puntos en 1-3 ganglios axilares afectados. En cambio, en ≥ 4 ganglios axilares afectados, no existe un grupo de bajo ni intermedio riesgo y todas las pacientes serán identificadas como de alto riesgo.

▼ Estudios de validación. Evidencia clínica del PAM50.

El test puede realizarse por laboratorios locales sin necesidad de centralizarlo en un solo laboratorio. Ahora bien, debe asegurarse que los niveles de reproducibilidad del test son óptimos independientemente de dónde se realice. Por este motivo, se completó un estudio de validación analítica (desde ARN y desde tejido tumoral) donde participaron 3 laboratorios independientes. Los resultados mostraron que la concordancia para el subtipo intrínseco era del 97-100% y la desviación estándar del ROR score era de 0.67-2.9 puntos (en una escala de 0 a 100 puntos). Este elevado nivel de estandarización del test le ha permitido alcanzar en el año 2013 la aprobación por parte de la Food and Drug Administration (FDA) de Estados Unidos obteniendo la certificación 510(k). En España, un estudio de reproducibilidad entre dos laboratorios académicos ha confirmado estos niveles de reproducibilidad. Además, recientemente se ha completado satisfactoriamente un estudio de reproducibilidad y de búsqueda del mínimo tejido tumoral necesario para realizar el test en biopsias diagnósticas y metastásicas.

▼ Indicaciones actuales demostradas: Validación pronóstica del ROR.

La habilidad pronóstica del ROR ha sido validada retrospectivamente en ~2.600 muestras tumorales provenientes de 2 estudios prospectivos (ATAC y ABCSG08) fase III, europeos, donde pacientes postmenopáusicas fueron tratadas con tratamiento local y 5 años de tratamiento endocrino (tamoxifeno o un inhibidor de aromataza) y fueron seguidas durante más de 10 años. Es de destacar que en el estudio ATAC, el mismo ARN había sido utilizado 3 años antes para evaluar la habilidad pronóstica de otro test genómico, el OncotypeDx[®] Recurrence Score (RS). Pues bien, en una comparación cara a cara, el PAM50 ROR demostró proporcionar una mayor cantidad de información pronóstica que el OncotypeDx[®]. Gracias a estos resultados, el nivel de evidencia para predecir pronóstico obtenido por parte del ROR es de 1B, y en el 2016 obtuvo la recomendación positiva por parte de las guías de la American Society of Clinical Oncology para utilizarse para decidir la necesidad de quimioterapia adyuvante.

vante en pacientes con tumores con expresión de los receptores hormonales, HER2 negativos y sin afectación ganglionar.

► **Predicción de recurrencias tardías:**

Aproximadamente la mitad de recurrencias en enfermedad luminal ocurren tras 5 años de seguimiento. La habilidad pronóstica del ROR entre los 5 a 10 años de seguimiento ha sido validada retrospectivamente en el ATAC y el ABSCG08. En ambos estudios, el ROR pudo identificar un grupo de pacientes cuyo riesgo residual entre los años 5 y 10 de seguimiento es inferior al 5%. Es de destacar que en el estudio ATAC, se comparó la habilidad pronóstica para predecir recurrencias tardías del ROR, IHC4 (un score combinado que tiene en cuenta los 4 marcadores inmunohistoquímicos clásicos RE, RP, HER2 y Ki67) y OncotypeDx[®] RS. El resultado mostró que solamente el ROR podía predecir recurrencia tardía más allá de las variables clásicas clínico-patológicas. En diciembre del 2014, la FDA actualizó la aprobación del PROSIGNA para incluir su capacidad de predecir recurrencia tardía en cáncer de mama hormonosensible.

► **Indicaciones actuales:**

El test del PAM50 tiene actualmente 3 indicaciones clínicas demostradas:

1/ Identificación “gold-standard” del subtipo intrínseco, siguiendo las recomendaciones del panel de consenso internacional de St. Gallen. Es importante mencionar que aunque existen definiciones subrogadas de los subtipos mediante la utilización de los datos inmunohistoquímicos, la discordancia entre ambas clasificaciones es del 30-40%.

2/ Identificación de pacientes con enfermedad luminal que no necesitan poliquimioterapia adyuvante dado su bajo riesgo de recidiva a 10 años sin ella.

3/ Identificación de pacientes con enfermedad luminal que no necesitan terapia endocrina más allá de 5 años dado su bajo riesgo de recidiva tardía.

▼ **Perspectivas de futuro.**

Disponemos actualmente de datos que sugieren que el test del PAM50 tendrá más aplicaciones e indicaciones en los próximos años. Aquí un ejemplo de potenciales indicaciones:

- En enfermedad triple-negativa, el test identifica la enfermedad basal-like y no-basal-like y esta separación será probablemente útil para predecir un distinto beneficio a agentes de quimioterapia, o bien a tratamientos endocrinos como los anti-andrógenos. Por ejemplo, en el estudio de fase III para pacientes con enfermedad triple-negativa diseminada aleatorizadas a carboplatino o docetaxel (estudio TNT), las pacientes con enfermedad no-basal-like mostraron un claro beneficio al docetaxel versus al carboplatino¹¹.
- En enfermedad receptor hormonal-positiva/HER2-negativa, el test puede identificar un grupo de pacientes con enfermedad no-luminal (HER2-enriched o basal-like) que no se benefician del tratamiento endocrino en adyuvancia o en primera línea metastásica.
- En enfermedad HER2-positiva, el test puede identificar un grupo de pacientes con bajo riesgo de recidiva que probablemente puedan ser tratadas con baja intensidad de quimioterapia y tratamiento anti-HER2, o incluso sin quimioterapia¹⁰.

📖 Bibliografía:

1. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000;406(6797):747-52.
2. Prat A, Perou CM. Deconstructing the molecular portraits of breast cancer. *Mol Oncol* 2011;5(1):5-23.
3. Cancer Genome Atlas N. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2012;490(7418):61-70.
4. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol* 2013;24(9):2206-23.
5. Prat A, Adamo B, Cheang MC, et al. Molecular characterization of basal-like and non-basal-like triple-negative breast cancer. *Oncologist* 2013;18(2):123-33.
6. Dowsett M, Sestak I, Lopez-Knowles E, et al. Comparison of PAM50 risk of recurrence score with OncotypeDx® and IHC4 for predicting risk of distant recurrence after endocrine therapy. *J Clin Oncol* 2013;31(22):2783-90.
7. Gnant M, Filipits M, Greil R, et al. Predicting distant recurrence in receptor-positive breast cancer patients with limited clinicopathological risk: using the PAM50 Risk of Recurrence score in 1478 postmenopausal patients of the ABCSG-8 trial treated with adjuvant endocrine therapy alone. *Ann Oncol* 2014;25(2):339-45.
8. Martín M, González-Rivera M, Morales S, et al. Prospective study of the impact of the Prosigna™ assay on adjuvant clinical decision-making in women with estrogen receptor-positive, HER2-negative, node-negative breast cancer: A GEICAM study. *SABCS 2014. Cancer Res* 2015;75(9 suppl):Abstract P6-08-10.
9. Prat A, Carey LA, Adamo B, et al. Molecular features and survival outcomes of the intrinsic subtypes within HER2-positive breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2014;106(8):Pii:dju152.
10. Prat A, Bianchini G, Thomas M, et al. Research-based PAM50 subtype predictor identifies higher responses and improved survival outcomes in HER2-positive breast cancer in the NOAH study. *Clin Cancer Res* 2014;20(2):511-21.
11. Prat A, Ellis MJ, Perou CM. Practical implications of gene-expression-based assays for breast oncologists. *Nat Rev Clin Oncol* 2011;9(1):48-57.
12. Filipits M, Nielsen TO, Rudas M, et al. The PAM50 risk-of-recurrence score predicts risk for late distant recurrence after endocrine therapy in postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer. *Clin Cancer Res* 2014;20(5):1298-305.
13. Sestak I, Dowsett M, Zabaglo L, et al. Factors predicting late recurrence for estrogen receptor-positive breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2013;105(9):1504-11.

▶ Capítulo 24

Tratamiento neoadyuvante. Biomarcadores, valor pronóstico y predictivo de la respuesta patológica completa.

Encarna Adrover Cebrián, Laia Bernet Vegué,
Maria Dolors Sabadell Mercadal.

1. Introducción.

Los profesionales que trabajamos en la investigación y en el tratamiento de las mujeres con cáncer de mama estamos viviendo una época fascinante en la que convergen dos mundos que hasta hace unos años eran muy distantes. Por un lado, el mundo de la información y de la demanda social de una atención personalizada, más allá del simple tratamiento del cáncer. Por otro, el de la investigación básica y biomédica. Ejemplo de integración entre la clínica y la básica es el desarrollo de las terapias biológicas, cuyo reto es identificar a aquellas pacientes que más se benefician de un tratamiento específico para maximizar su efecto y minimizar el riesgo de efectos secundarios. La posibilidad, además, de combinarlas con los tratamientos convencionales como la quimioterapia o la hormonoterapia es ya una realidad con un beneficio demostrado para las pacientes, no sólo en adyuvancia sino también como tratamiento sistémico primario (TSP) o neoadyuvancia, habiéndose alcanzado tasas de respuesta patológica completa (pRC) > 60%. Estudios retrospectivos han demostrado que la obtención de una pRC en mama y axila se asocia con un aumento en la supervivencia libre de enfermedad (SLE) y, en algunas series, con un aumento de supervivencia global (SG). La pRC se ha postulado como un biomarcador (BM) de eficacia de un determinado tratamiento.

De las diferentes definiciones de respuesta pRC, la más aceptada actualmente es la definida como **“la ausencia de cáncer invasivo en la mama y los ganglios linfáticos regionales después de finalizar el TSP”**. Estudios retrospectivos de 12 ensayos clínicos (ECs) han demostrado que la persistencia de carcinoma ductal *in situ* (CDIS) residual no modifica el pronóstico a largo plazo^{2,3}.

Las indicaciones de TSP se han ido ampliando a lo largo del tiempo: de la indicación inicial de quimioterapia neoadyuvante (QTN) en tumores localmente avanzados/irreseccables y en carcinoma inflamatorio, hemos pasado a recomendarla en tumores cT2-3 cNO-1 cMO operables de inicio, en las que o bien no es posible una cirugía conservadora (luminales B, fundamentalmente), o su biología tumoral (triple negativo, o HER2) condiciona un pronóstico peor aunque modificable si se alcanza una pRC⁴.

Dos son los objetivos de la TSP en cáncer de mama inicial:

- Disminuir el tamaño del tumor y erradicar la afectación axilar; esto permite técnicas quirúrgicas menos agresivas y con menor morbilidad tanto en la mama (tumorectomías más pequeñas con mejor resultado estético, preservando piel y pezón) como en la axila (omisión de la linfadenectomía axilar en caso de ganglio centinela (GC) post-neoadyuvancia negativo).
- Mostrar la sensibilidad *in vivo* del cáncer a la terapia administrada como modelo de trabajo para la investigación y aprobación acelerada de nuevas drogas.

En este escenario, **biología tumoral, tipo y duración de la QTN** constituyen el tándem sobre el que trabajar para conseguir el mayor porcentaje de pRC, y modificar de forma clara el pronóstico de las pacientes.

Una de las cuestiones clave es si la TSP debe variar en función del subtipo molecular. El ensayo I-SPY 1⁵ analizó si la respuesta a la QTN depende del subtipo molecular del tumor y si dicha respuesta impacta en la SLE. Se incluyeron tumores ≥ 3 cm tratados con diferentes quimioterápicos. Ninguna paciente recibió trastuzumab. El estudio concluye que la biología tumoral es la que condiciona la respuesta a la quimioterapia y la evolución posterior de la paciente.

► **Tumores triple negativos (TN) y HER2+/RE-(receptor de estrógeno):**

Son los que con mayor probabilidad alcanzarán una pRC, que para estos fenotipos concretos, se asocia con una mejor SLE y SG. La mayoría de ECs publicados han demostrado además que si tras 5 años no ha habido recaída a distancia, estas pacientes estarán curadas^{6,7}.

► **Tumores luminales:**

Para los tumores con expresión de receptores hormonales (luminales B con índices proliferativos altos, o HER2+/RE+), la administración de 8 ciclos de QTN en vez de 6 consigue mayor porcentaje de pRC⁸.

La caracterización biológica e individual de cada tumor a partir de BM, ya sea desde el punto de vista proteómico o genómico, es una necesidad.

2. Biomarcadores.

▼ **Inmunohistoquímica.**

En los años 80, la aplicación rutinaria de técnicas inmunohistoquímicas (IHQ) al estudio morfológico de los tumores hizo posible, basándose en la expresión de RE y de progesterona (RP), la primera clasificación predictiva de cáncer de mama. Se definieron dos subtipos biológicos distintos, el **estrógeno-dependiente** y el **no-estrógeno-dependiente**.

Posteriormente, el desarrollo de un anticuerpo contra el receptor de membrana HER2, definió un nuevo subtipo biológico susceptible de beneficiarse de la terapia con anticuerpos monoclonales anti HER2.

RE, RP y HER2 son BM imprescindibles en el informe patológico de cáncer de mama y su evaluación ofrece información fundamental para la selección de la TPS. Las limitaciones de la IHQ derivan fundamentalmente del escaso control sobre variables pre-analíticas esenciales como el tiempo de isquemia y de fijación.

Especial atención merece Ki67, cuya reproducibilidad entre laboratorios es sólo moderada y cuya interpretación puede ser poco consistente, especialmente en el rango de valores entre el 10 y el 30%.

Un reciente meta-análisis⁹ asocia una expresión >25% con peor pronóstico y mayor riesgo de muerte que porcentajes de expresión más bajos. Para su interpretación, se recomienda la aplicación de la guía internacional¹⁰.

En cuanto a la valoración del grado de respuesta al TSP, en los casos de hormonoterapia neoadyuvante en tumores luminales/HER2-, las variaciones en Ki67 en biopsias seriadas y el índice PEPI (índice pronóstico endocrino preoperatorio) son estrategias prometedoras para diferenciar los cánceres de mama hormonosensibles vs los RE+ hormonosensibles. En octubre de 2017 se presentarán los resultados del ensayo ALTERANTE; mientras, permanecen en el ámbito de la investigación¹¹.

Los únicos BM-IHQ incluidos en la guía europea de 2017¹² y soportados por un nivel I de evidencia son RE, RP y HER2.

La presencia de abundantes linfocitos infiltrantes tumorales (TILs) pudiera tener un valor pronóstico añadido en tumores triple negativos tras QTN¹³. Se han comunicado un mejor pronóstico y mayor tasa de pRC¹⁴, pero este nuevo BM necesita confirmar su valor predictivo/pronóstico en ECs bien diseñados.

▼ Molecular.

Basándose en la expresión de diferentes genes “**intrínsecos**”, las nuevas clasificaciones moleculares distinguen tres grupos fundamentales de cáncer de mama: luminales (A y B), HER2 (HER2 enriquecido/RE- y HER2/RE+), y TN (basales y no basales).

Los tests genómicos están aprobados para identificar grupos de pacientes con tumores RE+/HER2- y NO/N1a con pronóstico favorable que no van a beneficiarse de tratamiento quimioterápico.

Si bien el uso de plataformas genómicas –en vez de parámetros clásicos de IHQ- ha permitido identificar aquellos subtipos moleculares susceptibles de alcanzar la pRC, no disponemos de ningún test predictivo de respuesta a los múltiples quimioterápicos disponibles en cáncer de mama^{15,16}.

A pesar de ello, el conocimiento de las principales vías oncogénicas implicadas en los diferentes fenotipos tumorales, nos ha permitido identificar fármacos diana capaces de modificar el pronóstico de las pacientes.

Comentaremos alguno de ellos y su potencial uso en neoadyuvancia:

- El primero de estos fármacos diana fue el tamoxifeno. Los inhibidores selectivos de los receptores de estrógeno (**SERMs**) y los **inhibidores de aromataza (IA)** son el pilar de tratamiento de tumores luminales (A y B). En monoterapia como tratamiento neoadyuvante consiguen tasas bajas de pRC¹⁷ en gran parte condicionadas por tratamientos de pocas semanas de duración para tumores con índices proliferativos bajos. Una manera de aumentar esta tasa de respuestas es prolongando la duración del tratamiento y combinando la terapia endocrina con inhibidores de ciclina CDK4/6 (I-CDK4/6). En enfermedad metastásica la combinación de IA + I-CDK4/6 ha demostrado la mayor tasa de respuestas y control de la enfermedad conseguida hasta la fecha, duplicando el tiempo libre de progresión más allá de los 20 meses. Además, ha demostrado igual eficacia en mujeres premenopáusicas, lo que ofrece una alternativa más en estos casos^{18,19}. El ensayo clínico FELINE NCT02712723, con ribociclib + letrozol (durante 24 semanas de tratamiento) ha finalizado el reclutamiento de pacientes y presentará resultados en breve plazo²⁰. Otros tres ECs con I-CK4/6 están en marcha, con nuevas combinaciones también en tumores HER2+/RE+: PALLET NCT02296801 (palbociclib + letrozol), neoMONARCH NCT02441946 (abemaciclib + anastrozol) y PALTAN NCT02907918 (palbociclib + letrozol + trastuzumab). Si se confirman los resultados esperados, esta combinación de tratamiento podría ser muy útil en casos de tumores luminales (A y probablemente también B) y especialmente lobulillares, frecuentemente de mayor tamaño con muy escasa respuesta a la QTN²¹.

► El subtipo de tumores con sobreexpresión o amplificación de HER2 ha sido el que mayor cambio ha experimentado en los últimos 15 años. El descubrimiento de fármacos que inactivan selectivamente **la vía HER2** ha permitido tasas de curación nunca antes alcanzadas: en adyuvancia, la adición de trastuzumab a la quimioterapia (QT) adyuvante ha reducido a la mitad el riesgo de recaída y mejorado un 30% la supervivencia^{22,23}. En el caso de la neoadyuvancia, regímenes de quimioterapia más actuales combinados con doble bloqueo anti-HER2 desde el inicio (trastuzumab + pertuzumab/lapatinib) han alcanzado tasas de pRC > 60%^{24,25}. Pero no todos los tumores HER2 se benefician por igual de la terapia anti-HER2. En un análisis retrospectivo del ensayo CALGB40601, el subtipo HER2 enriquecido fue el único en mostrar un aumento en las tasas de pRC con doble bloqueo anti-HER2 vs. sólo trastuzumab (80% vs. 71%)²⁶. Datos de supervivencia del ensayo NeoALTTO demuestran que las pacientes con tumores HER2+/RE- son las que obtienen un mayor beneficio (aunque no estadísticamente significativo) tras QTN y doble bloqueo anti-HER2 (trastuzumab + lapatinib) frente a QTN + trastuzumab⁷. Se necesitan más estudios para aclarar el valor pronóstico y la sensibilidad a las distintas terapias anti-HER2 de los subtipos intrínsecos dentro del cáncer de mama HER2. Especialmente interesante sería poder identificar las pacientes con cáncer de mama precoz HER2 que podrían tratarse sin QT, sólo con doble bloqueo anti-HER2 (+/- terapia endocrina). Las tasas de pRC en el brazo sin QT de los ensayos NeoSphere (n=107, 4 ciclos de pertuzumab + trastuzumab) y TBCRC006 (n=64; 12 semanas de lapatinib + trastuzumab y terapia endocrina si RH +) fueron del 16,8 % y 27%, respectivamente^{27,28}. En ambos estudios, los tumores HER2+/RE- lograron las mayores tasas de pRC. Otro ensayo fase II, el TBCRC023, analizó la duración del tratamiento y la pRC, comparando lapatinib + trastuzumab (más terapia endocrina si HR+), por 12 semanas vs 24 semanas. Las tasas de pRC en los tumores HER2+/RE+ fueron de 8,7% vs 33,2%. Un tratamiento más prolongado en estos casos podría alcanzar tasas de pRC similares a la QT más dos agentes anti-HER2²⁹.

► La QT estándar en cáncer de mama inicial está basada en combinaciones de antraciclinas y taxanos. Datos preclínicos sugieren que **los cánceres de mama tipo basal** son más sensibles a los agentes que dañan la reparación de la doble hélice del ADN, como el cisplatino, hasta un 20% de estos tumores tiene mutaciones somáticas en BRCA1/2 y podrían beneficiarse del tratamiento con platinos o inhibidores de PARP. Dos ensayos clínicos (CALGB40603 y GeparSixto) han analizado el impacto de añadir carboplatino a un régimen de QTN basado en antraciclina / taxano en cáncer de mama triple negativo^{30,31}. Los dos estudios mostraron que al añadir carboplatino se aumenta la tasa de pRC en un 15%. Un análisis retrospectivo de expresión génica del CALGB40603, encontró en las pacientes con tumores de tipo basal (83%) un aumento en la pRC con la adición de carboplatino (de 47% a 61% p= 0.014), incremento que no difirió significativamente de la población total del estudio³². Otro ensayo en neoadyuvancia en pacientes con cáncer de mama triple negativo (BRCA positivo y negativo) con docetaxel y carboplatino por 6 ciclos, ha demostrado tasas similares de pRC: BRCA-mutado 59% frente a no mutado 56%, (p= 0.83)³³.

Se necesitan más estudios para aclarar si la clasificación en subtipo basal pudiera ser un BM de respuesta a un determinado fármaco. Estudios recientes³⁴ demuestran que los subgrupos HER2 y basal se asociaron a mayores tasas de pRC (45%), frente al 7% de los tumores luminales. Ninguno de los 61 genes asociados con la pRC coincide en ambos grupos, lo que sugiere que los mecanismos moleculares de sensibilidad a la TSP deban ser distintos en ambos subtipos moleculares.

En la actualidad, es imprescindible seguir profundizando tanto en un mejor conocimiento de los BM disponibles como en el desarrollo de otros nuevos que permitan, en el contexto de ensayos clínicos bien diseñados, evaluar la eficacia de las nuevas dianas terapéuticas.

3. Valoración clínica y radiológica de la respuesta a la neoadyuvancia.

La cantidad de enfermedad residual tras TSP es el valor más reproducible e importante relacionado con la SLE y SG de las pacientes.

Antes de iniciar la TSP, debe realizarse un estudio mamográfico completo con al menos 2 de las siguientes pruebas de imagen: mamografía, ecografía de mama y áreas ganglionares y resonancia magnética mamaria (RM), estudio que se repetirá igualmente en el momento de evaluación de respuesta. Algunos centros, realizan un control precoz de respuesta tras el 2º ciclo de TSP con RM.

Debe realizarse una biopsia con aguja gruesa (BAG) de todas las lesiones sospechosas de la mama y colocar uno o varios localizadores antes de iniciar la TSP puesto que pueden llegar a desaparecer. Deben también biopsiarse o realizar una punción por aspiración con aguja fina (PAAF) de las adenopatías sospechosas.

La aplicación del GC para estadificar pacientes con cáncer de mama tratadas con QTN sigue siendo controvertido. Para pacientes con ganglios clínicamente negativos de inicio, el GC post-neoadyuvancia es un buen método de estadificación.

En los casos cNO al diagnóstico, el estudio del GC puede realizarse antes de la TSP o en el momento de la cirugía, según experiencia y protocolo del equipo multidisciplinar que trate a la paciente. Datos recientes indican que el GC post-neoadyuvancia puede también aplicarse a pacientes N1 de inicio, ofreciendo la posibilidad de evaluar la respuesta ganglionar a la TSP y seleccionar pacientes candidatas a linfadenectomía/radioterapia axilar. En cuanto al método de estudio del GC, el ensayo NeoVaTTL [estudio del ganglio centinela mediante técnica OSNA (one-step-nucleic acid amplification) tras QTN] demuestra (datos no publicados; comunicación oral congreso SEAP mayo 2017. B Vieites) que la TSP no afecta la expresión del ARNm-CK19, que puede ser estudiado por procedimiento OSNA identificando cualquier carga tumoral residual. Otros estudios en curso están adaptando el valor de la Carga Tumoral Total (CTT) al método del Residual Breast Cancer Burden (RCB)³⁵ o Índice de Carga Tumoral Residual para la evaluación completa de la respuesta ganglionar a la TSP.

Se completará el estudio con una estadificación somática completa para confirmar cMO.

La monitorización de la respuesta a TSP debe ser continuada durante todo el tratamiento, tanto a nivel de la mama como en áreas ganglionares. A pesar de que el riesgo de progresión durante la TSP es bajo (3-7%)³⁶, en el caso de objetivarla clínicamente debe realizarse una valoración radiológica, finalizar el tratamiento sistémico y realizar un planteamiento quirúrgico.

La exploración clínica, la mamografía y la ecografía tienen limitaciones para evaluar la respuesta al tratamiento. La RM se considera la prueba de imagen más sensible para medir la respuesta a la TSP³⁷, aunque puede sobreestimar o infravalorar la enfermedad residual debido a una reducción parcheada o a CDIS residual. En ambos casos puede condicionar la decisión quirúrgica, con cirugía más amplia que podría afectar al resultado estético o a realizar una mastectomía por sobreestimación del tamaño, y a la obtención de márgenes quirúrgicos positivos en el caso contrario. En un metaanálisis de 25 estudios la RM predijo la pRC en la mama con una especificidad del 90,7% y una sensibilidad del 63,1%³⁸. La valoración de respuesta por RM no es igual para todos los fenotipos: es más exacta en tumores triple negativos y HER2 y más inexacta en los tumores luminales^{39,40}. En los casos en que Ki67 >40%, hay poca diferencia entre el tamaño de la lesión residual por RM y el patológico de la pieza quirúrgica⁴¹.

Cuando la lesión presenta microcalcificaciones extensas la posibilidad de cirugía conservadora es baja, aunque no contraindica la TSP. En este último caso, la mamografía será la técnica ideal para guiar la extensión de la tumorectomía tras TSP. La valoración de la respuesta radiológica debe realizarse según criterios RECIST 1.1⁴². **Fig. 24.1**

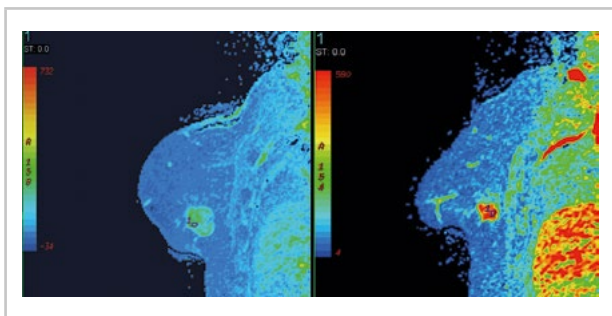


Figura 24.1. Valoración mediante RM de respuesta a la TSP. Respuesta radiológica parcial⁴²: disminución al menos de un 30% de la suma de las lesiones diana.

4. Valoración patológica de la respuesta a la neoadyuvancia.

La **valoración patológica** de la pieza quirúrgica es el método de elección para evaluar la respuesta a la TSP. Las guías internacionales recomiendan aplicar el RCB³⁵, que ha demostrado un valor predictivo independiente de riesgo de recaída a distancia. Un análisis retrospectivo de pacientes que recibieron distintas QTN (paclitaxel + FAC, FAC, paclitaxel + FEC + trastuzumab), el RCB demostró valor pronóstico independiente para SG en los fenotipos TN, luminal B/HER2- y HER2. Todas las pacientes con pRC (RCB-O) o enfermedad mínima residual (RCB-I) tuvieron mejor SLE y SG que aquellas con respuesta parcial o tumor residual extenso (RCB-II y III), independientemente del fenotipo del tumor⁴³.

La respuesta ganglionar después de QTN es un factor independiente de diseminación posterior.

En cuanto a márgenes quirúrgicos tras TSP, se aplican los mismos criterios que en cirugía conservadora de inicio, con las mismas implicaciones pronósticas de riesgo de recidiva local.

Además, se podrá realizar una comparación de posibles diferencias IHQs entre el fenotipo de la lesión inicial y el de la lesión residual si las hubiere. La pRC en mama y axila es el factor pronóstico más importante. La persistencia de tumor infiltrante después de TSP, es un factor predictivo de recaída³⁵.

También la progresión tumoral durante la TSP y los cambios IHQ en el tumor residual impactan en la SLE y SG de las pacientes.

Debido a la heterogeneidad tumoral⁴⁴, pacientes con tumores receptores hormonales negativos que después de la QTN se positivizaron, consiguieron una supervivencia superior al añadir la hormonoterapia adyuvante⁴⁵. La expresión de HER2 puede disminuir/desaparecer debido al tratamiento con agentes anti-HER2⁴⁵ hasta en un 45,7% de los casos⁴⁶. Los cambios en Ki67 tienen un valor pronóstico añadido, observándose un mejor pronóstico en aquellas pacientes en las que después de QTN su tumor residual tiene un Ki67 más bajo que al inicio⁴⁷, y un pronóstico peor en caso de incremento de Ki67, sin diferencias significativas entre fenotipos tumorales⁴⁸.

En cuanto a fenotipo tumoral y recidivas locorreccionales cuando queda tumor infiltrante residual, los tumores triple negativos recaen más en comparación con los HER2 y luminales⁴⁹; en estos casos, la cantidad de tumor residual en la mama impacta en el pronóstico (ypT1-2 mejor que ypT3-4), pero sin diferencias pronósticas en cuanto a la respuesta axilar (ypN0 vs ypN1-3)⁵⁰.

El seguimiento de las pacientes tras TSP, debería individualizarse según el riesgo de recidiva local y a distancia. La pRC y el fenotipo influirán en el pronóstico de la enfermedad a medio y largo plazo y en la personalización del seguimiento⁵¹.

☞ Take-Home messages: Ideas a retener.

- El fenotipo tumoral definido por los distintos biomarcadores (BM), tipo de terapia sistémica primaria (TSP) aplicada y el grado de respuesta tumoral, condicionarán el tratamiento quirúrgico posterior y el pronóstico de la enfermedad a medio y largo plazo.
- Sólo se recomienda realizar TSP dentro de un equipo multidisciplinar entrenado en todas las disciplinas implicadas en la neoadyuvancia en cáncer de mama.
- Es imprescindible estudiar al máximo la información proporcionada por la biopsia inicial del tumor, y si es posible guardar una muestra en el banco de tumores.
- Un modelo predictivo útil debe combinar, la extensión anatómica de la enfermedad (pTNM), los hallazgos histológicos y los parámetros moleculares disponibles. Los principales factores pronósticos son el diámetro tumoral, el estado de los ganglios linfáticos y el subtipo intrínseco.
- Si queremos hacer verdaderamente una medicina personalizada, necesitamos disponer de información histológica completa y mejorar la precisión del TNM (la 8ª ed. incorporará a partir de enero del 2018 parámetros histológicos).
- La información inmunohistoquímica (IHQ) estandarizada deberá incluir en el informe patológico los datos moleculares disponibles, carga tumoral total (CTT) y subtipo intrínseco del tumor, individualizando la elección del test en función de la evidencia y particularidades individuales de cada paciente. Deberes ineludibles en el siglo XXI.

☞ Bibliografía:

1. Provenzano E, Bossuyt V, Viale G, et al. Standardization of pathologic evaluation and reporting of postneoadjuvant specimens in clinical trials of breast cancer: recommendations from an international working group. *Mod Pathol* 2015;28(9):1185-201.
2. Cortazar P, Zhang L, Untch M, et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: The CTNeoBC pooled analysis. *Lancet*. 2014;384(9938):164-72.
3. Mazouni C, Peintinger F, Wan-Kau S, et al. Residual ductal carcinoma in situ in patients with complete eradication of invasive breast cancer after neoadjuvant chemotherapy does not adversely affect patient outcome. *J Clin Oncol*. 2007;25(19):2650-5.
4. NCCN guideline 2-2017. Breast Cancer.
5. Esserman LJ, Berry DA, Cheang MCU, et al. Chemotherapy response and recurrence-free survival in neoadjuvant breast cancer depends on biomarker profiles: results from the I-SPY 1 TRIAL (CALGB150007/150012; ACRIN 6657). *Breast Cancer Res Treat* 2012;132:1049-62.
6. Cortazar P, Zhang L, Untch M, et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: The CTNeoBC pooled analysis. *Lancet*. 2014;384(9938):164-72.
7. Azambuja E, Holmes AP, Piccart-Gebhart M, et al. Lapatinib with trastuzumab for HER2-positive early breast cancer (NeoALTTO): survival outcomes of a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial and their association with pathological complete response. *Lancet Oncol* 2014;15(10):1137-46.
8. von Minckwitz G, Untch M, Nüesch E, et al. Impact of treatment characteristics on response of different breast cancer phenotypes: pooled analysis of the German neo-adjuvant chemotherapy trials. *Breast Cancer Res Treat* 2011;125 (1):145-56.
9. Petrelli F, Viale G, Cabiddu M, et al. Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 64.196 patients. *Breast Cancer Res Treat* 2015;153(3):477-91.
10. Dowsett M, Nielsen TO, A'hern R, et al. Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the international Ki67 in breast cancer working group. *J Natl Cancer Inst* 2011;103(22):1656-64.
11. Ma CX, Bose R, Ellis MJ. Prognostic and Predictive Biomarkers of Endocrine Responsiveness for Estrogen Receptor Positive Breast Cancer. *Adv Exp Med Biol* 2016;882:125-54.
12. Duffy MJ, Harbeck N, Nap M, et al. Clinical use of biomarkers in breast cancer: Updated guidelines from the European Group on Tumor Markers (EGTM). *Eur J Cancer* 2017;75:284-98.
13. Salgado R, Denkert C, Demaria S, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: Recommendations by an International TILS Working Group 2014. *Ann Oncol*. 2015;26(2):259-71.
14. Jiang T, Shi W, Wali VB, Pongor LS, Li C, Lau R, et al. Predictors of Chemosensitivity in Triple Negative Breast Cancer: An Integrated Genomic Analysis. *PLoS med*. 2016;13(12):e1002193.
15. Kittaneh M, Montero AJ, Glück S. Molecular profiling for breast cancer: A comprehensive review. *Biomark Cancer* 2013;5:61-70.
16. Harbeck N, Sotlar K, Wuerstlein R, et al. Molecular and protein markers for clinical decision making in breast cancer: Today and tomorrow. *Cancer Treat Rev*. 2014;40(3):434-44.
17. Barnadas A, Gil M, Gonzalez S, et al. Exemestane as primary treatment of oestrogen-positive breast cancer in postmenopausal women: a phase II trial. *Br J Cancer* 2009;100(3):442-9.
18. Finn RS, Martin M, Rugo HS, et al. Palbociclib and letrozole in advanced breast cancer. *N Engl J Med*. 2016;375(20):1925-36.
19. Hortobagyi G, Stemmer S, Burris H, et al. Ribociclib as first-line therapy for HR-positive, advanced breast cancer. *N Engl J Med* 2016;375(18):1738-48.
20. Khan QJ, Prochaska LH, Mohammad J, et al. Femara plus ribociclib or placebo as neo-adjuvant endocrine therapy for women with ER+, HER2-negative early breast cancer - The Feline trial. SABCS 2016. *Cancer Res* 2017;77(4) Suppl.
21. Shah A, Cristofanilli M. The growing role of CDK4/6 inhibitors in treating hormone receptor-positive advanced breast cancer. *Curr Treat Options Oncol*. 2017;18(1):6.

22. Romond EH, Pérez EA, Bryant J, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable Her2-positive breast cancer. *New Engl J Med* 2005;353(16):1673-84.
23. Slamon D, Eiermann W, Robert N, et al. Adjuvant trastuzumab in Her2-positive breast cancer. *New Engl J Med* 2011;365(14):1273-83.
24. Buzdar AU, Suman VJ, Meric-Bernstam F, et al. Fluorouracil, epirubicin and cyclophosphamide (FEC-75) followed by paclitaxel plus trastuzumab versus paclitaxel plus trastuzumab followed by FEC-75 plus trastuzumab as neoadjuvant treatment for patients with Her2-positive breast cancer (Z1041): a randomised, controlled phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013;14(13):1317-25.
25. Untch M, Jackisch C, Schneeweiss A, et al. Nab-paclitaxel versus solvent-based paclitaxel in neoadjuvant chemotherapy for early breast cancer (GeparSepto-GBG 69): a randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2016;17(3):345-56.
26. Carey LA, Berry DA, Cirrincione CT, et al. Molecular heterogeneity and response to neoadjuvant human epidermal growth factor receptor 2 targeting in CALGB 40601, a randomized phase III trial of paclitaxel plus trastuzumab with or without lapatinib. *J Clin Oncol*. 2016;34(6):542-9.
27. Gianni L, Pienkowski T, Im YH, et al. Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a randomised multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2012;13(1):25-32.
28. Rimawi MF, Mayer IA, Forero A, et al. Multicenter phase II study of neoadjuvant lapatinib and trastuzumab with hormonal therapy and without chemotherapy in patients with human epidermal growth factor receptor 2-overexpressing breast cancer: TBCRC 006. *J Clin Oncol*. 2013;31(14):1726-31.
29. Rimawi MF, Niravath P, Wang T, et al. TBCRC023: A randomized multicenter phase II neoadjuvant trial of lapatinib plus trastuzumab, with endocrine therapy and without chemotherapy, for 12 vs. 24 weeks in patients with HER2 overexpressing breast cancer. DOI: 10.1158/1538-7445.SABCS14-S6-02 Published May 2015. *Cancer Res* 2015;75(9) suppl.
30. von Minckwitz G, Schneeweiss A, Loibl S, et al. Neoadjuvant arboplatin in patients with triple-negative and HER2-positive early breast cancer (GeparSixto; GBG 66): a randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2014;15(7):747-56.
31. Sikov WM, Berry DA, Perou CM, et al. Impact of the addition of carboplatin and/or bevacizumab to neoadjuvant once-per-week followed by dose-dense doxorubicin and on pathologic complete response rates in stage II to III triple-negative breast cancer: CALGB 40603 (Alliance). *J Clin Oncol* 2015;33(1):13-21.
32. Castellon AB, Pihorecky I, Valero V, et al. The role of carboplatin in the neoadjuvant chemotherapy treatment of triple negative breast cancer. *Oncol Rev* 2017;11(1):324.
33. Sharma P, Lopez-Tarruella S, García-Saenz JA, et al. Efficacy of neoadjuvant carboplatin plus docetaxel in triple-negative breast cancer: combined analysis of two cohorts. *Clin Cancer Res*. 2017;23(3):649-57.
34. Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005;11(16):5678-85.
35. Symmans WF, Peintinger F, Hatzis C, et al. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2007;25(28):4414-22.
36. Caudle AS, Gonzalez-Angulo AM, Hunt KK, et al. Impact of progression during neoadjuvant chemotherapy on surgical management of breast cancer. *Ann Surg Oncol*. 2011;18(4):932-8.
37. Chen J, Feig B, Hsiang J, et al. Impact of MRI-Evaluated Neoadjuvant Chemotherapy Response on Change of Surgical Recommendation in Breast Cancer. *Ann Surg*. 2009;249(3):448-54.
38. Yuan Y, Chen XS, Liu SY, et al. Accuracy of MRI in prediction of pathologic complete remission in breast cancer after preoperative therapy: A meta-analysis. *AJR Am J Roentgenol*. 2010;195(1):260-8.
39. Loo CE, Straver ME, Rodenhuis S, et al. Magnetic resonance imaging response monitoring of breast cancer during neoadjuvant chemotherapy: Relevance of Breast Cancer Subtype. *J Clin Oncol*. 2011;29(6):660-6.
40. Jochelson MS, Lampen-Sachar K, Gibbons G, et al. Do MRI and Mammography Reliably Identify Candidates for Breast Conservation After Neoadjuvant Chemotherapy? *Ann Surg Oncol*. 2015;22(5):1490-5.
41. Chen J-H, Bahri S, Mehta RS, et al. Evaluation of Response to Neoadjuvant Purpose Chemotherapy with 3,0-T MR Imaging. *Radiology*. 2011;261(3):735-43.
42. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*. Elsevier Ltd; 2009;45(2):228-47.
43. Symmans W, Wei C, Gould R, et al. Long-Term Prognostic Risk After Neoadjuvant Chemotherapy Associated With Residual Cancer Burden and Breast Cancer Subtype. *J Clin Oncol*. 2017;35(10):1049-60.
44. Dawood S, Gonzalez-angulo AM. Biomarker discordance pre and post neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Cancer biomarkers*. 2013;12(6):241-50.
45. Sahoo S, Lester SC. Pathology of breast carcinomas after neoadjuvant chemotherapy an overview with recommendations on specimen processing and reporting. *Arch Intern Med*. 2009;133(4):633-42.
46. Parinyanitikul N, Lei X, Chavez-Macgregor M, et al. Receptor status change from primary to residual breast cancer after neoadjuvant chemotherapy and analysis of survival outcomes. *Clin Breast Cancer*. 2015;15(2):153-60.
47. Montagna E, Bagnardi V, Viale G, et al. Changes in PgR and Ki-67 in residual tumour and outcome of breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Ann Oncol*. 2014;26(2):307-13.
48. Matsubara N, Mukai H, Fujii S, et al. Different prognostic significance of Ki-67 change between pre- and post-neoadjuvant chemotherapy in various subtypes of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2013;137(1):203-12.
49. Yang TJ, Morrow M, Modi S, et al. The Effect of Molecular Subtype and Residual Disease on Locoregional Recurrence in Breast Cancer Patients Treated with Neoadjuvant Chemotherapy and Postmastectomy Radiation. *Ann Surg Oncol*. 2015;22(3):S495-501.
50. Kern S, Von Minckwitz G, Puettner C, et al. Prognostic impact of residual disease after neoadjuvant chemotherapy in 648 patients with triple-negative breast cancer. *Anticancer Res*. 2015;35(10):5479-84.
51. Algara López M, Vicente García F, Adrover Cebrian E, et al. Consenso de seguimiento de pacientes con cáncer de mama de la Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria. *Rev Senol Patol Mamar*. 2015;28(1):24-33.

▶ Anexo I

Clasificación TNM AJCC 8ª Edición. 2017.

Maria Dolors Sabadell Mercadal, Gemma Ferrandis Salvador, Màxim Izquierdo Sanz, Miguel Prats de Puig, Alfonso Modolell Roig.

En el diagnóstico y tratamiento del cáncer de mama es muy importante establecer una correcta clasificación inicial, antes de iniciar cualquier estrategia terapéutica. Hasta el momento actual, el TNM clásico, en sus progresivas versiones hasta la 7ª edición, ha representado una importante herramienta para precisar correctamente el estadio clínico y patológico, valorando el riesgo y pudiendo establecer pautas de tratamiento adecuadas.

Se presenta la 8ª edición del TNM por la AJCC, que ha incorporado nuevos factores pronósticos, como las determinaciones inmunohistoquímicas (IHQ) de los receptores hormonales, del índice de proliferación Ki67 y del oncogén HER2, ya sea por IHQ o inmunofluorescencia (ISH). Asimismo, se han incorporado en la valoración pronóstica las firmas genéticas, que nos permiten definir los diferentes subtipos de cáncer de mama.

Estos son, en nuestra opinión, algunos de los grandes avances del TNM octava edición de la American Joint Committee on Cancer (AJCC)¹.

▼ Definición del tumor primario (T) – clínica y patológica.

▶ Categoría T	▶ Criterios de T
• TX	El tumor primario no puede ser evaluado
• T0	No hay evidencia de tumor primario
• Tis (CDIS)*	Carcinoma ductal <i>in situ</i>
• Tis (Paget)	Enfermedad de Paget del pezón NO asociada a carcinoma invasivo ni carcinoma <i>in situ</i> (CDIS) en el parénquima mamario subyacente. Los carcinomas en el parénquima mamario asociados a la enfermedad de Paget se clasifican en función del tamaño y las características de la enfermedad parenquimatosa, aunque la presencia de la enfermedad de Paget debe seguir siendo observada
• T1	Tumor ≤ 20 mm en su diámetro mayor
T1mi	Tumor ≤ 1 mm en su diámetro mayor
T1a	Tumor > 1 mm pero ≤ 5 mm en su diámetro mayor (alrededor de cualquier medida 1,0-1,9 mm a 2 mm)
T1b	Tumor > 5 mm pero ≤ 10 mm en su diámetro mayor
T1c	Tumor > 10 mm pero ≤ 20 mm en su diámetro mayor
• T2	Tumor > 20 mm pero ≤ 50 mm en su diámetro mayor
• T3	Tumor > 50 mm en su diámetro mayor
• T4	Tumor de cualquier tamaño con extensión a pared torácica y/o piel (ulceración o nódulos macroscópicos); la invasión de la dermis por sí sola no califica como T4
T4a	Extensión a pared torácica; la invasión o adherencia al músculo pectoral en ausencia de invasión de estructuras de la pared torácica no califica como T4
T4b	Ulceración y/o nódulos satélites macroscópicos y/o edema (incluyendo piel de naranja) de la piel que no cumple criterios de carcinoma inflamatorio
T4c	Presencia de T4a y T4b
T4d	Carcinoma inflamatorio (ver reglas de clasificación)

* Nota: El carcinoma lobular in situ (CLIS) es una entidad benigna y ha sido eliminado de la clasificación TNM de la AJCC, 8ª edición.

Anexo I. Tabla I. Definición del tumor primario (T) - clínica y patológica.

▼ Definición de ganglios linfáticos regionales – clínica (cN).

► Categoría cN	► Criterios de cN
• cNX*	Los ganglios linfáticos regionales no pueden ser evaluados (ej: extirpación previa).
• cN0	No hay evidencia de metástasis en los ganglios linfáticos regionales (por imagen o exploración clínica).
• cN1	Metástasis móviles en niveles I-II en ganglios linfáticos axilares ipsilaterales.
cN1mi**	Micrometástasis (aproximadamente 200 células, mayor de 0,2 mm, pero no mayor de 2,0 mm).
• cN2	Metástasis en ganglios linfáticos axilares ipsilaterales en niveles I-II fijos entre si o conglomerado; - o en ganglios mamarios internos ipsilaterales en ausencia de metástasis en ganglios linfáticos axilares.
cN2a	Metástasis en ganglios axilares ipsilaterales, niveles I-II, fijos entre ellos (conglomerado) o a otras estructuras.
cN2b	Metástasis sólo en ganglios mamarios internos ipsilaterales en ausencia de metástasis en ganglios linfáticos axilares.
• cN3	Metástasis en ganglios linfáticos infraclaviculares (nivel III axilar) con o sin afectación de los ganglios linfáticos axilares de niveles I-II; - o en ganglios linfáticos mamarios internos con metástasis en ganglios linfáticos axilares de niveles I-II; - o metástasis en ganglios linfáticos supraclaviculares ipsilaterales con o sin afectación de los ganglios axilares o mamarios internos.
cN3a	Metástasis en ganglios linfáticos infraclaviculares.
cN3b	Metástasis en ganglios linfáticos mamarios internos ipsilaterales y axilares.
cN3c	Metástasis en ganglios linfáticos supraclaviculares ipsilaterales.

Nota: Los sufijos (sn) y (f) pueden ser añadidos a la categoría N para denotar la confirmación de metástasis en la biopsia del ganglio centinela o en la punción aspiración con aguja fina/biopsia con aguja gruesa (PAAF/BAG) respectivamente.
* La categoría cNX se utiliza con moderación en casos en que los ganglios linfáticos regionales hayan sido previamente extirpados quirúrgicamente o cuando no se tenga documentación de la exploración física de la axila.
** cN1mi rara vez se utiliza, pero puede ser apropiado en los casos en que la biopsia del ganglio centinela se realiza antes de la extirpación del tumor, pudiendo ser más frecuente su utilización en casos con terapia neoadyuvante.

Anexo I. Tabla II: Definición clínica de ganglios linfáticos regionales (cN).

▼ Definición de ganglios linfáticos regionales – patológica (pN).

► Categoría pN	► Criterios de pN
• pNX	Los ganglios linfáticos regionales no pueden ser evaluados (ej: no extirpados para su estudio patológico o extirpados anteriormente).
• pN0	No se han identificado metástasis en los ganglios linfáticos regionales o sólo se han identificado células tumorales sueltas (ITCs).
pN0(i+)	Sólo ITC (clúster de células malignas no superior a 0,2 mm) en ganglios linfáticos regionales.
pN0(mol+)	Hallazgos moleculares positivos en la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR); no se detectan ITCs.
• pN1	Micrometástasis; o metástasis en 1-3 ganglios linfáticos axilares; y/o ganglios de la cadena mamaria interna clínicamente negativos con micrometástasis o macrometástasis por biopsia del ganglio centinela.
pN1mi	Micrometástasis (aproximadamente 200 células, mayor de 0,2 mm, pero no mayor de 2,0 mm).
pN1a	Metástasis en 1-3 ganglios linfáticos axilares, al menos una metástasis mayor de 2,0 mm.
pN1b	Metástasis en ganglios centinela de la mamaria interna ipsilateral, excluyendo ITCs.
pN1c	Combinación de pN1a y pN1b.
• pN2	Metástasis en 4-9 ganglios linfáticos axilares; o ganglios positivos mamarios internos ipsilaterales por imagen en ausencia de metástasis en ganglios linfáticos axilares.
pN2a	Metástasis en 4-9 ganglios linfáticos axilares (al menos una metástasis mayor de 2,0 mm).
pN2b	Metástasis en ganglios linfáticos de la mamaria interna detectados clínicamente con o sin confirmación microscópica; con patología negativa en los ganglios axilares.
• pN3	Metástasis en 10 o más ganglios linfáticos axilares; o en ganglios linfáticos infraclaviculares (nivel III axilar); o ganglios linfáticos positivos en mamaria interna ipsilateral por imagen en presencia de 1 o más ganglios linfáticos positivos en niveles axilares I-II; o en más de 3 ganglios linfáticos axilares con micrometástasis o macrometástasis en la biopsia del ganglio centinela con ganglios de la mamaria interna clínicamente negativos; o en ganglios linfáticos supraclaviculares ipsilaterales.
pN3a	Metástasis en 10 o más ganglios linfáticos axilares (al menos una metástasis mayor de 2,0 mm); o metástasis en los ganglios linfáticos infraclaviculares (nivel III axilar).
pN3b	pN1a o pN2a en presencia de cN2b (ganglios positivos en mamaria interna por imagen); o pN2a en presencia de pN1b.
pN3c	Metástasis en ganglios linfáticos supraclaviculares ipsilaterales.
Nota: Los sufijos (sn) y (f) pueden ser añadidos a la categoría N para denotar la confirmación de metástasis en la biopsia del ganglio centinela o en la punción aspiración con aguja fina/biopsia con aguja gruesa (PAAF/BAG) respectivamente, SIN resección adicional de los ganglios.	

Anexo I. Tabla III: Definición patológica de ganglios linfáticos regionales (pN).

▼ Definición de metástasis a distancia (M).

► Categoría pN	► Criterios de pN
• M0	No hay evidencia clínica o radiológica de metástasis a distancia*
cM0(i+)	No hay evidencia clínica o radiológica de metástasis a distancia en presencia de células tumorales o depósitos no mayores de 0,2 mm detectados microscópicamente o por técnicas moleculares en sangre periférica, médula ósea, u otros nódulos en tejidos no regionales en pacientes sin signos o síntomas de metástasis.
• M1	Metástasis a distancia detectadas por clínica o por medios radiológicos (cM) y/o metástasis con estudio histológico mayores de 0,2 mm (pM).

* Los estudios por imagen no son necesarios para asignar la categoría cM0.

Anexo I. Tabla IV: Definición de metástasis a distancia (M).

▼ Estadios anatómicos según AJCC.

► Cuando T es...	► y N es...	► y M es...	► El estadio es...
Tis	N0	M0	0
T1	N0	M0	IA
T0	N1mi	M0	IB
T1	N1mi	M0	IB
T0	N1	M0	IIA
T1	N1	M0	IIA
T2	N0	M0	IIA
T2	N1	M0	IIB
T3	N0	M0	IIB
T0	N2	M0	IIIA
T1	N2	M0	IIIA
T2	N2	M0	IIIA
T3	N1	M0	IIIA
T3	N2	M0	IIIA
T4	N0	M0	IIIB
T4	N1	M0	IIIB
T4	N2	M0	IIIB
Cualquier T	N3	M0	IIIC
Cualquier T	Cualquier N	M1	IV

Notas:

- La clasificación anatómica por estadios puede ser usada en caso de no tener acceso a los marcadores biológicos.
- La clasificación M0 incluye M0(i+).
- La clasificación pM0 no es válida; cualquier M0 es clínica.
- Las pacientes M1 previa al tratamiento neoadyuvante, continúan clasificadas como Estadio IV independientemente de la respuesta a la terapia neoadyuvante.

Anexo I. Tabla V: Estadios anatómicos según AJCC.

▼ Estadio pronóstico AJCC - 1ª parte.

T	N	M	GH	Estatus* HER2	RE	RP	Estadio pronóstico
Tis	N0	M0	1-3	Cualquiera	Cualquiera	Cualquiera	0
T1	N0	M0	1	Positivo	Cualquiera	Cualquiera	IA
T1	N0	M0	1-2	Negativo	Positivo	Positivo	IA
T1	N0	M0	2	Positivo	Positivo	Positivo	IA
T1	N0	M0	3	Positivo	Positivo	Cualquiera	IA
T0-1	N1mi	M0	1	Positivo	Cualquiera	Cualquiera	IA
T0-1	N1mi	M0	1-2	Negativo	Positivo	Positivo	IA
T0-1	N1mi	M0	2	Positivo	Positivo	Positivo	IA
T0-1	N1mi	M0	3	Positivo	Positivo	Cualquiera	IA
Panel Multigen ** OncotypeDx® Tasa de Recurrencia (Recurrence Score) menor a 11							
T1-2	N0	M0	1-3	Negativo	Positivo	Cualquiera	IA
T1	N0	M0	1	Negativo	Positivo	Negativo	IB
T1	N0	M0	1	Negativo	Negativo	Positivo	IB
T1	N0	M0	2	Positivo	Positivo	Negativo	IB
T1	N0	M0	2	Positivo	Negativo	Cualquiera	IB
T1	N0	M0	2	Negativo	Negativo	Positivo	IB
T1	N0	M0	3	Positivo	Negativo	Cualquiera	IB
T1	N0	M0	3	Negativo	Positivo	Positivo	IB
T0-1	N1mi	M0	1	Negativo	Positivo	Negativo	IB
T0-1	N1mi	M0	1	Negativo	Negativo	Positivo	IB
T0-1	N1mi	M0	2	Positivo	Positivo	Negativo	IB
T0-1	N1mi	M0	2	Positivo	Negativo	Cualquiera	IB
T0-1	N1mi	M0	2	Negativo	Negativo	Positivo	IB
T0-1	N1mi	M0	3	Positivo	Negativo	Cualquiera	IB
T0-1	N1mi	M0	3	Negativo	Positivo	Positivo	IB
T2	N0	M0	1-3	Positivo	Positivo	Positivo	IB
T2	N0	M0	1-2	Negativo	Positivo	Positivo	IB
T1	N1	M0	1-3	Positivo	Positivo	Positivo	IB
T1	N1	M0	1-2	Negativo	Positivo	Positivo	IB
T2	N1	M0	1	Negativo	Positivo	Positivo	IB***
T2	N1	M0	2	Positivo	Positivo	Positivo	IB***
T0-2	N2	M0	1-2	Positivo	Positivo	Positivo	IB***

T, N y M: Definición según TNM. GH: Grado Histológico. RE: Receptor de Estrógeno. RP: Receptor de Progesterona.

Anexo I. Tabla VI (1ª parte): Estadios pronósticos AJCC.

▼ Estadio pronóstico AJCC - 2ª parte.

T	N	M	GH	Estatus* HER2	RE	RP	Estadio pronóstico
T3	N1-2	M0	1	Positivo	Positivo	Positivo	IB***
T3	N1-2	M0	2	Positivo	Positivo	Positivo	IB***
T1	N0	M0	1	Negativo	Negativo	Negativo	IIA***
T1	N0	M0	2	Negativo	Negativo	Negativo	IIA***
T1	N0	M0	3	Negativo	Positivo	Negativo	IIA***
T1	N0	M0	3	Negativo	Negativo	Positivo	IIA***
T1	N0	M0	3	Negativo	Negativo	Negativo	IIA***
T0-1	N1mi	M0	1	Negativo	Negativo	Negativo	IIA
T0-1	N1mi	M0	2	Negativo	Negativo	Negativo	IIA
T0-1	N1mi	M0	3	Negativo	Positivo	Negativo	IIA
T0-1	N1mi	M0	3	Negativo	Negativo	Positivo	IIA
T0-1	N1mi	M0	3	Negativo	Negativo	Negativo	IIA
T0-1	N1	M0	1	Positivo	Positivo	Negativo	IIA
T0-1	N1	M0	1-2	Positivo	Negativo	Cualquiera	IIA
T0-1	N1	M0	1	Negativo	Positivo	Negativo	IIA
T0-1	N1	M0	1	Negativo	Negativo	Positivo	IIA
T0-1	N1	M0	3	Negativo	Positivo	Positivo	IIA
T2	N0	M0	1	Positivo	Positivo	Negativo	IIA
T2	N0	M0	1-2	Positivo	Negativo	Cualquiera	IIA
T2	N0	M0	1	Negativo	Positivo	Negativo	IIA
T2	N0	M0	1	Negativo	Negativo	Positivo	IIA
T2	N0	M0	3	Negativo	Positivo	Positivo	IIA
T0-2	N2	M0	1	Negativo	Positivo	Positivo	IIA***
T3	N1-2	M0	1	Negativo	Positivo	Positivo	IIA
T0-1	N1	M0	1	Negativo	Negativo	Negativo	IIB
T0-1	N1	M0	2	Positivo	Positivo	Negativo	IIB
T0-1	N1	M0	2	Negativo	Positivo	Negativo	IIB
T0-1	N1	M0	2	Negativo	Negativo	Positivo	IIB
T0-1	N1	M0	3	Positivo	Positivo	Negativo	IIB
T0-1	N1	M0	3	Positivo	Negativo	Cualquiera	IIB
T2	N0	M0	1	Negativo	Negativo	Negativo	IIB
T2	N0	M0	2	Positivo	Positivo	Negativo	IIB
T2	N0	M0	2	Negativo	Positivo	Negativo	IIB
T2	N0	M0	2	Negativo	Negativo	Positivo	IIB
T2	N0	M0	3	Positivo	Positivo	Negativo	IIB
T2	N0	M0	3	Positivo	Negativo	Cualquiera	IIB
T2	N1	M0	1	Positivo	Cualquiera	Cualquiera	IIB
T2	N1	M0	1	Negativo	Negativo	Positivo	IIB
T0-2	N2	M0	2	Negativo	Positivo	Positivo	IIB
T0-2	N2	M0	3	Positivo	Positivo	Positivo	IIB
T3	N1-2	M0	2	Negativo	Positivo	Positivo	IIB
T3	N1-2	M0	3	Positivo	Positivo	Positivo	IIB
T0-1	N1	M0	2	Negativo	Negativo	Negativo	IIIA***
T0-1	N1	M0	3	Negativo	Positivo	Negativo	IIIA

T, N y M: Definición según TNM. GH: Grado Histológico. RE: Receptor de Estrógeno. RP: Receptor de Progesterona.

Anexo I. Tabla VI (2ª parte): Estadios pronósticos AJCC.

▼ Estadio pronóstico AJCC - 3ª parte.

T	N	M	GH	Estatus* HER2	RE	RP	Estadio pronóstico
T0-1	N1	M0	3	Negativo	Negativo	Cualquiera	IIIA
T2	N0	M0	2	Negativo	Negativo	Negativo	IIIA***
T2	N0	M0	3	Negativo	Positivo	Negativo	IIIA***
T2	N0	M0	3	Negativo	Negativo	Cualquiera	IIIA***
T2	N1	M0	1	Negativo	Positivo	Negativo	IIIA
T2	N1	M0	2	Positivo	Negativo	Negativo	IIIA
T2	N1	M0	2	Negativo	Positivo	Negativo	IIIA
T2	N1	M0	3	Positivo	Positivo	Negativo	IIIA
T2	N1	M0	3	Positivo	Negativo	Negativo	IIIA
T3	N0	M0	1	Negativo	Positivo	Negativo	IIIA
T3	N0	M0	2	Positivo	Negativo	Negativo	IIIA
T3	N0	M0	2	Negativo	Positivo	Negativo	IIIA
T3	N0	M0	3	Positivo	Positivo	Negativo	IIIA
T3	N0	M0	3	Positivo	Negativo	Negativo	IIIA
T0-2	N2	M0	1	Positivo	Positivo	Negativo	IIIA
T0-2	N2	M0	1	Positivo	Negativo	Cualquiera	IIIA
T0-2	N2	M0	1	Negativo	Positivo	Negativo	IIIA
T0-2	N2	M0	1	Negativo	Negativo	Positivo	IIIA
T0-2	N2	M0	2	Positivo	Positivo	Negativo	IIIA
T0-2	N2	M0	2	Positivo	Negativo	Cualquiera	IIIA
T3	N1-2	M0	1	Positivo	Positivo	Negativo	IIIA
T3	N1-2	M0	1	Positivo	Negativo	Cualquiera	IIIA
T3	N1-2	M0	1	Negativo	Positivo	Negativo	IIIA
T3	N1-2	M0	1	Negativo	Negativo	Positivo	IIIA
T3	N1-2	M0	2	Positivo	Positivo	Negativo	IIIA
T3	N1-2	M0	2	Positivo	Negativo	Cualquiera	IIIA
T4	N0-2	M0	1	Negativo	Positivo	Positivo	IIIA
Cualquiera	N3	M0	1	Negativo	Positivo	Positivo	IIIA***
T2	N1	M0	1-2	Negativo	Negativo	Negativo	IIIB***
T2	N1	M0	3	Negativo	Positivo	Negativo	IIIB***
T3	N0	M0	1-2	Negativo	Negativo	Negativo	IIIB
T3	N0	M0	3	Negativo	Positivo	Negativo	IIIB
T0-2	N2	M0	2	Negativo	Positivo	Negativo	IIIB
T0-2	N2	M0	2	Negativo	Negativo	Positivo	IIIB
T0-2	N2	M0	3	Positivo	Positivo	Negativo	IIIB
T0-2	N2	M0	3	Positivo	Negativo	Cualquiera	IIIB
T0-2	N2	M0	3	Negativo	Positivo	Positivo	IIIB
T3	N1-2	M0	2	Negativo	Positivo	Negativo	IIIB
T3	N1-2	M0	2	Negativo	Negativo	Positivo	IIIB
T3	N1-2	M0	3	Positivo	Positivo	Negativo	IIIB
T3	N1-2	M0	3	Positivo	Negativo	Cualquiera	IIIB
T3	N1-2	M0	3	Negativo	Positivo	Positivo	IIIB
T4	N0-2	M0	1	Positivo	Cualquiera	Cualquiera	IIIB
T4	N0-2	M0	2	Positivo	Positivo	Positivo	IIIB

T, N y M: Definición según TNM. GH: Grado Histológico. RE: Receptor de Estrógeno. RP: Receptor de Progesterona.

Anexo I. Tabla VI (3ª parte): Estadios pronósticos AJCC.

▼ Estadío pronóstico AJCC - 4ª parte.

T	N	M	GH	Estatus* HER2	RE	RP	Estadio pronóstico
T4	N0-2	M0	2	Negativo	Positivo	Positivo	IIIB
T4	N0-2	M0	3	Positivo	Positivo	Positivo	IIIB
Cualquiera	N3	M0	1	Positivo	Cualquiera	Cualquiera	IIIB
Cualquiera	N3	M0	2	Positivo	Positivo	Positivo	IIIB
Cualquiera	N3	M0	2	Negativo	Positivo	Positivo	IIIB
Cualquiera	N3	M0	3	Positivo	Positivo	Positivo	IIIB
T2	N1	M0	3	Negativo	Negativo	Cualquiera	IIIC***
T3	N0	M0	3	Negativo	Negativo	Cualquiera	IIIC
T0-2	N2	M0	2	Negativo	Negativo	Negativo	IIIC***
T0-2	N2	M0	3	Negativo	Positivo	Negativo	IIIC***
T0-2	N2	M0	3	Negativo	Negativo	Cualquiera	IIIC***
T3	N1-2	M0	2	Negativo	Negativo	Negativo	IIIC***
T3	N1-2	M0	3	Negativo	Positivo	Negativo	IIIC***
T3	N1-2	M0	3	Negativo	Negativo	Cualquiera	IIIC***
T4	N0-2	M0	1	Negativo	Positivo	Negativo	IIIC
T4	N0-2	M0	1	Negativo	Negativo	Cualquiera	IIIC
T4	N0-2	M0	2	Positivo	Positivo	Negativo	IIIC
T4	N0-2	M0	2	Positivo	Negativo	Cualquiera	IIIC
T4	N0-2	M0	2	Negativo	Positivo	Negativo	IIIC
T4	N0-2	M0	2	Negativo	Negativo	Cualquiera	IIIC
T4	N0-2	M0	3	Positivo	Positivo	Negativo	IIIC
T4	N0-2	M0	3	Positivo	Negativo	Cualquiera	IIIC
T4	N0-2	M0	3	Negativo	Cualquiera	Cualquiera	IIIC
Cualquiera	N3	M0	1	Negativo	Positivo	Negativo	IIIC
Cualquiera	N3	M0	1	Negativo	Negativo	Cualquiera	IIIC
Cualquiera	N3	M0	2	Positivo	Positivo	Negativo	IIIC
Cualquiera	N3	M0	2	Positivo	Negativo	Cualquiera	IIIC
Cualquiera	N3	M0	2	Negativo	Positivo	Negativo	IIIC
Cualquiera	N3	M0	2	Negativo	Negativo	Cualquiera	IIIC
Cualquiera	N3	M0	3	Positivo	Positivo	Negativo	IIIC
Cualquiera	N3	M0	3	Positivo	Negativo	Cualquiera	IIIC
Cualquiera	N3	M0	3	Negativo	Cualquiera	Cualquiera	IIIC
Cualquier T	Cualquier N	M1	1-3	Cualquiera	Cualquiera	Cualquiera	IV

* En los casos donde el resultado de HER2 sea indeterminado por ISH (FISH o CISH), siguiendo los criterios de análisis de las guías de ASCO/CAP de 2013, se debe considerar el HER2 negativo para la clasificación en la tabla de estadio pronóstico.

** Si el panel genético OncotypeDx® no se realiza, no está disponible, o la tasa de recurrencia es superior o igual a 11 para pacientes con T1-2 N0 M0 HER2 negativas, RE positivas, el grupo de estadio pronóstico se valora según la anatomía y los biomarcadores valorados arriba. OncotypeDx® es el único panel multigénico incluido en esta tabla, por tener datos de soporte prospectivos de Nivel 1. Futuras actualizaciones pueden incluir otros paneles, cuando tengan el suficiente nivel de evidencia.

*** El Grupo de estadiaje, con la inclusión del grado y los factores pronósticos, cambian el grupo en más de un estadio comparado con el estadiaje anatómico (por ejemplo, de estadio anatómico IIB a estadio pronóstico IB).

NOTA: El valor pronóstico del estadiaje por grupos pronósticos está basado en poblaciones de personas con cáncer de mama donde se puede ofrecer tratamiento apropiado con quimioterapia y hormonoterapia.

Anexo I. Tabla VI (4ª parte): Estadios pronósticos AJCC.

▼ Grado histológico (GH).

▸ GH	▸ GH Definición
• GX	El grado histológico no puede ser evaluado
• G1	Bajo grado histológico. Score SBR de 3-5 puntos
• G2	Grado histológico intermedio (moderadamente favorable); Score SBR de 6-7 puntos
• G3	Alto grado histológico (desfavorable); Score SBR de 8-9 puntos

Anexo I. Tabla VII: Grado histológico (GH). SBR: Sistema de clasificación de Scarff-Bloom-Richardson.

▼ Caracterización de la respuesta al tratamiento neoadyuvante.

▸ Categorías de respuesta al tratamiento	▸ Descripción
<ul style="list-style-type: none"> • Respuesta Patológica Completa (pCR) • ypT0N0 ó ypTisN0 	<ul style="list-style-type: none"> ▸ La respuesta patológica completa sólo puede ser determinada por estudio histopatológico y se define como la ausencia de carcinoma invasivo en la mama y en los ganglios linfáticos. ▸ La presencia de carcinoma <i>in situ</i> después del tratamiento en ausencia de lesión residual invasiva se considera pCR. ▸ Las pacientes con focos tumorales aislados en los ganglios linfáticos no se clasifican como respuesta completa. ▸ La presencia de depósitos tumorales en los ganglios axilares de cualquier tamaño, incluyendo los clústers celulares de 0,2 mm o menores, excluyen la respuesta completa. Estas pacientes se clasificarán como ypN0(i+).
<ul style="list-style-type: none"> • Respuesta Clínica Parcial (cPR) 	<ul style="list-style-type: none"> ▸ La disminución en una o ambas categorías T o N comparada con la clínica pre-tratamiento y sin incremento en T o N, representa una respuesta parcial. La mejor evaluación del grado de respuesta clínica parcial (cPR) se define comparando las categorías pre-tratamiento para cT y cN con las post-tratamiento (ycT y ycN). Esta comparación debe basarse en el método clínico que definió las dimensiones del tumor antes del tratamiento. Definir que el grado de respuesta patológica es menor que una respuesta completa es problemático, porque en estos casos no existe una categorización patológica previa al tratamiento para comparar. ▸ La afectación ganglionar debería ser determinada por exploración física o evaluación radiológica si los ganglios son palpables o visibles antes de la quimioterapia. Si se ha demostrado una afectación microscópica ganglionar antes de la quimioterapia mediante punción con aguja fina, biopsia con aguja gruesa o del ganglio centinela, debe registrarse usando cN. La respuesta ganglionar será evaluada con exploración física y por imagen para ycN. La evaluación microscópica de los ganglios extirpados después de la quimioterapia proporcionará la respuesta patológica (ypN). ▸ La ausencia post-tratamiento de afectación patológica ganglionar debe utilizarse para definir la respuesta patológica completa, debiendo tenerse en cuenta que puede no necesariamente representar una “verdadera” respuesta, ya que no se sabe si los ganglios extirpados quirúrgicamente después de la quimioterapia, estaban afectados antes del tratamiento.
<ul style="list-style-type: none"> • No respuesta (NR) 	<ul style="list-style-type: none"> ▸ Sin aparentes cambios en las categorías T o N en comparación con la evaluación pre-tratamiento, o un incremento en T o N en la evaluación patológica, indica que no hay respuesta al tratamiento. El T clínico pre-tratamiento se caracterizará por los hallazgos clínicos y radiológicos. Post-tratamiento T vendrá determinado por el tamaño patológico (ypT) en tumores resecables y por examen clínico o por imagen en no resecables (ycT). ▸ Para tumores resecables la categoría de la respuesta se añadirá a la descripción. Por ejemplo: ypTisypN0cM0CR; ypT1ypN0cM0PR; ypT2ypN1cM0NR. ▸ Rara vez el cáncer progresa durante la terapia. No hay categoría específica para esta circunstancia, debiendo utilizarse la NR.

Anexo I. Tabla VIII: Caracterización de la respuesta al tratamiento neoadyuvante.

📖 Bibliografía:

1. AJCC Cancer Staging Manual. Eighth edition. Ed. Mahul B Amin. Switzerland. 2017. ISBN 978-3-319-40617-6.

► Anexo II

15th St. Gallen International Breast Cancer Conference 2017.

Màxim Izquierdo Sanz, Maria Dolors Sabadell Mercadal, Miguel Prats de Puig, Alfonso Modolell Roig.

1. Introducción.

La 15th St. Gallen International Breast Cancer Conference 2017 tuvo lugar en marzo de 2017 en Viena. Se trata de una reunión multidisciplinaria y global con la presencia de representantes de 160 naciones de todos los continentes. El punto álgido de la conferencia es el “**consensus panel**”, donde 52 panelistas revisaron y discutieron diferentes áreas de tratamiento, con atención especial a las controversias en el diagnóstico y tratamiento del cáncer de mama inicial. El objetivo de esta conferencia es proporcionar unas guías clínicas prácticas destinadas a establecer estrategias terapéuticas adecuadas para las mujeres afectas de cáncer de mama inicial. Dada la diversidad de representantes, algunos procedentes de zonas desfavorecidas, el panel revisó también la aplicación de alternativas diagnósticas y terapéuticas menos costosas, cuando puedan estar indicadas.

El título de la conferencia de este año fue: “**De-escalating and Escalating Treatment for Early Stage Breast Cancer**”, con la finalidad de identificar áreas en las cuales los tratamientos óptimos pueden conseguirse con “**menos**” o “**mas**” tratamiento. Los panelistas insistieron en la importancia de la medicina basada en la evidencia, a la vez que reconocieron que los ensayos randomizados fase III no siempre son relevantes para enfocar situaciones concretas en la práctica clínica diaria. A veces, las necesidades de un paciente concreto se resuelven mejor con una aproximación individualizada a su singular situación clínica. Los panelistas insistieron en la necesidad de ensayos clínicos bien diseñados enfocados a permitir el acceso a los mejores tratamientos disponibles.

En cuanto a la **cirugía** los panelistas del consenso se mostraron partidarios de varias intervenciones destinadas a reducir la morbilidad quirúrgica, tales como:

- La aceptación de 2 mm para los márgenes del CDIS.
- La resección del cáncer residual (pero no abarcando toda la extensión del tumor previo) en las mujeres sometidas a tratamiento neoadyuvante.
- La aceptación de la biopsia del ganglio centinela después del tratamiento neoadyuvante.
- La preferencia del tratamiento neoadyuvante para las pacientes con HER2 positivo y triple negativo, en estadios II y III.

Respecto a la **radioterapia**, los panelistas se mostraron partidarios de incluir una irradiación de las cadenas linfáticas regionales en las pacientes de alto riesgo, mientras que se estimuló la omisión de la sobreimpresión en las pacientes de bajo riesgo.

En la valoración de las **firmas genéticas**, el panel aprobó la realización de las mismas en muchas pacientes con receptores estrogénicos positivos, con la finalidad de evitarles la quimioterapia adyuvante.

En referencia a la **terapia hormonal** para las mujeres con tumores de alto riesgo, los miembros del consenso se mostraron partidarios de la “**escalación**”, recomendando incluir la supresión ovárica en mujeres premenopáusicas y el tratamiento prolongado para las mujeres postmenopáusicas. A tener en cuenta que las mujeres de bajo riesgo pueden evitar este enfoque.

En referencia a los **bisfosfonatos**, se recomendó su uso en mujeres postmenopáusicas para prevenir las recurrencias.

En resumen, los integrantes del consenso opinaron que la individualización del tratamiento adyuvante comporta conocer bien las características del tumor, preferencias y comorbilidades de la paciente y una cuidadosa valoración de los costes, acceso a las exploraciones diagnósticas de última generación y a los tratamientos más actuales, no siempre disponibles en los países en vías de desarrollo y en ciertas regiones de los países desarrollados.

2. Carcinoma ductal *in situ*.

- ▶ La cirugía de conservación de mama seguida de radioterapia sigue siendo el estándar para el carcinoma ductal *in situ* (CDIS) suponiendo que se pueden obtener márgenes adecuados. La mayoría del panel aprobó las recientes directrices de la Surgical Society of Oncology (SSO), American Society of Clinical Oncology (ASCO) y American Society for Radiation Oncology (ASTRO), recomendando que un margen de 2 mm es suficiente para evitar la reexcisión. Una minoría sustancial del panel aceptó menores márgenes en casos individuales, incluida la no tinta sobre CDIS.
- ▶ El panel reconoció los recientes estudios que muestran que los inhibidores de aromataasa (IA) o el tamoxifeno pueden ser un tratamiento adyuvante eficaz como opción quimiopreventiva para reducir el riesgo de recidiva del CDIS.

3. Cirugía primaria para el cáncer de mama inicial.

- ▶ El panel analizó si las mujeres con lesiones multifocales (múltiples áreas de tumor en un cuadrante) o multicéntricas (múltiples áreas de tumor que afectan a más de un cuadrante) son candidatas a la conservación de la mama.
- ▶ El panel apoyó fuertemente la conservación de la mama para la enfermedad multifocal y multicéntrica, siempre que los márgenes quirúrgicos sean negativos, que se prevea la radioterapia y que la resección quirúrgica tenga una cosmética adecuada.
- ▶ El panel reiteró la regla de “no tinta en el tumor” para los márgenes quirúrgicos del cáncer de mama invasivo, y recomendó este estándar independientemente de la biología del tumor o subtipo.
- ▶ Un metaanálisis de las experiencias de un solo centro sugiere un riesgo muy bajo de recurrencia locoregional después de una mastectomía conservadora de pezón. Basándose en estas observaciones, el grupo aprobó la mastectomía conservadora de pezón como una opción quirúrgica apropiada.

- ▶ Adicionalmente, el panel apoyó específicamente la mastectomía conservadora de pezón bilateral como una opción para la cirugía mamaria en mujeres con mutaciones hereditarias de BRCA1/2 conocidas, siempre que se revisara cuidadosamente el tejido retroareolar sin encontrar evidencia de tumor en esta región.
- ▶ Basado en el ensayo ACOSOG Z-0011, evitar la disección axilar en mujeres con 1 o 2 ganglios centinelas positivos, se ha convertido en la opción estándar en aquellos casos que han tenido tratamiento conservador, que reciben radioterapia de toda la mama y tratamiento sistémico adyuvante, independientemente de la biología tumoral.
- ▶ El panel recomendó que campos de radioterapia “tangenciales” o “altamente tangenciales” eran apropiados en estos casos y no mostró preferencias específicas. Asimismo se discutió cómo estas técnicas afectan a las mujeres sometidas a mastectomía.
- ▶ El panel recomendó terapia adicional de la axila en mujeres con mastectomía y biopsia de ganglio centinela con macrometástasis que afecten a 1 o 2 ganglios, considerando que la radioterapia postquirúrgica o la linfadenectomía serían apropiadas para estas pacientes.

4. Cirugía de mama después de la terapia neoadyuvante.

- ▶ El tratamiento neoadyuvante tiene dos objetivos principales:
 - 1/ Proporcionar tratamiento sistémico efectivo (equivalente a la terapia adyuvante) para prevenir la recurrencia del cáncer.
 - 2/ Permitir la desescalación de las técnicas quirúrgicas para muchas mujeres con tumores grandes y/o afectación ganglionar axilar.
- ▶ El panel planteó la pregunta: “¿Debe researse toda el área del tumor original después de la terapia neoadyuvante o solamente el tumor residual?”, y se deliberó sobre los márgenes quirúrgicos apropiados después del tratamiento neoadyuvante.

- ▶ El panel recomendó que la extensión del tumor residual guía la extensión de la cirugía y que la resección completa del tumor inicial no era necesaria. En general, el panel favoreció la “no tinta en los márgenes quirúrgicos después del tratamiento neoadyuvante”. Sin embargo, en enfermedad residual multifocal y/o casos de enfermedad residual “dispersa”, muchos panelistas expresaron la opinión de favorecer márgenes más “generosos”. Esta decisión debe ser consensuada con el equipo multidisciplinar que debe emitir un juicio clínico apropiado. La mastectomía conservadora de pezón era una opción para las pacientes que recibieron tratamiento neoadyuvante, y la zona retroareolar sin afectación tumoral.

5. Cirugía axilar después de la terapia neoadyuvante.

- ▶ En axila clínicamente negativa antes del tratamiento neoadyuvante, es apropiada la biopsia del ganglio centinela después del tratamiento primario.
- ▶ Hubo controversia en axila clínicamente positiva antes del tratamiento neoadyuvante con respuesta completa clínica después del tratamiento. Se consideró que la biopsia del ganglio centinela en lugar de linfadenectomía axilar sería: Adecuada si se detectan al menos 3 o más ganglios centinelas negativos y generalmente inadecuada si sólo se identifican 1 ó 2 ganglios.
- ▶ En axila positiva después del tratamiento y macrometástasis en la biopsia del ganglio centinela la recomendación fue de linfadenectomía axilar.
- ▶ Hubo controversia en caso de micrometástasis en la biopsia del ganglio centinela, justificando gran parte del panel la linfadenectomía axilar.

6. Radioterapia después de la cirugía de mama.

- ▶ Debido a los altos niveles de evidencia de seguridad y eficacia a largo plazo, el panel opinó que la radioterapia hipofraccionada es un estándar apropiado para la mayoría de pacientes, especialmente aquellas mayores de 50 años. Esto representa una oportunidad para desescalar el tratamiento.
- ▶ El panel también reconoció la irradiación parcial de mama como una opción para mujeres que cumplan los criterios de bajo riesgo propuestos por las guías clínicas de la ASTRO/ESTRO, aunque reconoció que había menos evidencia para este enfoque.
- ▶ Para las mujeres con riesgo clínico intermedio o superior, el panel recomendó la irradiación de toda la mama.
- ▶ El panel creyó que la sobreimpresión (boost) podría omitirse en pacientes de edad avanzada (≥ 60 años), con tumores de bajo grado y / o biología tumoral favorable, tratadas con hormonoterapia adyuvante.
- ▶ El panel recomendó la irradiación de las áreas ganglionares en pacientes con pN1 (1 a 3 ganglios positivos) y características clínicas adversas incluyendo la edad temprana (≤ 40 años), biología adversa (expresión de receptores de estrógenos bajos o negativos, grado alto y extensa invasión linfovascular), y todas las pacientes con 4 o más ganglios linfáticos positivos.
- ▶ Para las mujeres pN1 de bajo riesgo, los beneficios potenciales de la irradiación de las cadenas ganglionares debe suspenderse teniendo en cuenta los riesgos de toxicidad, incluyendo neumonitis y linfedema.
- ▶ El panel recomendó la radioterapia post-mastectomía en todas las pacientes con 4 o más ganglios linfáticos positivos y / o tumores pT3. Para las pacientes con tumores pN1 con menores características de riesgo, el uso de la radioterapia post mastectomía debe suspenderse frente a los riesgos de toxicidad, incluyendo el aumento de las complicaciones después de la reconstrucción mamaria.

- ▶ El panel reconoció la escasez de datos para adaptar la radioterapia basada en la respuesta al tratamiento neoadyuvante, y recomendó que tanto el estadio inicial como el postratamiento debían ser considerados en la planificación de la administración de la radioterapia.
- ▶ En la era de la biopsia selectiva del ganglio centinela, las decisiones sobre el tratamiento con radioterapia tendrán que hacerse con una información de estadificación menos completa. Dos estudios en curso (NSABP B-51 y Alliance A11202) nos aportarán datos acerca de la indicación y planificación radioterápica en estas situaciones.

7. Caracterización de la biología tumoral, subtipos y firmas genéticas.

- ▶ Existen cuatro subtipos de cáncer de mama que requieren enfoques de tratamiento diferentes:
 - Tumores triple negativo: La quimioterapia es eficaz y el único tratamiento disponible.
 - Tumores HER2 positivo: Independientemente del estado de los receptores de estrógeno (RE), se indica tratamiento anti HER2 y quimioterapia.
 - Tumores RE positivos: Dos tipos de tumores, ambos tratados con hormonoterapia. En muchas de estas pacientes se puede omitir la quimioterapia.
- ▶ El estado del RE y del receptor de progesterona (RP), se determinan mediante inmunohistoquímica IHQ. El estado del receptor HER2 se determina por IHQ o hibridación *in situ* (ISH).
- ▶ Los tumores también se caracterizan por el grado y la fracción proliferativa (Ki67), pudiendo afectar a la recomendación de quimioterapia en tumores RE positivos. Para disminuir la variabilidad del Ki67 por IHQ se sugiere calibrar a una puntuación común que se correlacione con los laboratorios de patología.
- ▶ No notificar sistemáticamente la presencia de linfocitos infiltrantes en el cáncer de mama inicial.
- ▶ Mediante la histopatología convencional los tumores pueden clasificarse en: luminal A.: Bajo grado, RE/RP altamente positivos, HER2 negativo y Ki67 bajo y luminal B: Grados variables de expresión RE/RP, grado más alto, mayor Ki67.
- ▶ La histopatología puede ser utilizada para informes de decisiones de tratamiento adyuvante. El grado histológico o el Ki67 pueden ser utilizados para distinguir entre luminal A y luminal B.
- ▶ Cuando están disponibles las firmas genéticas son preferibles a la histopatología estándar, sobre todo si la reproductibilidad no está garantizada.
- ▶ Firmas genéticas:
 - Ninguna indicación en casos clínicos de bajo riesgo, pT1a/b, grado histológico (GH) 1, RE alto, NO, o similares en que la quimioterapia no se indicaría.
 - Las firmas genéticas más usadas en el grupo de pacientes NO, para ayudar a decidir el tipo de tratamiento adyuvante son: Oncotype®, MammaPrint®, PAM50 ROR®, EpClin® y Breast Cancer Index®. Todas estas firmas son válidas para tomar decisiones en pacientes NO, y para identificar las pacientes de bajo riesgo, con un excelente pronóstico, que pueden evitarse la quimioterapia.
 - Pueden mejorar la valoración del pronóstico en cáncer de mama ganglio positivo. El panel no respaldó unánimemente su uso para tomar decisiones de tratamiento con quimioterapia adyuvante en ganglio positivo.
 - Tumores de bajo riesgo y afectación limitada ganglionar parecen tener un buen pronóstico con o sin quimioterapia.
 - No se recomienda su uso para establecer un tratamiento hormonal prolongado.
 - El panel discutió el uso rutinario de los tests genéticos en pacientes RE positivos, recomendando no realizar firmas genéticas en pacientes que no son candidatas a quimioterapia adyuvante debido a su estadio o riesgo tumoral, a las comorbilidades del paciente o en pacientes en estadio III que necesitan quimioterapia adyuvante.
 - Las pacientes con tumores 1-3 cm, NO, N1-3 y Ki67 intermedio, son el grupo donde las firmas genéticas son más valiosas.

- Las firmas genéticas no deben ser el único factor para tomar la decisión de proceder o evitar la quimioterapia.

8. Hormonoterapia adyuvante: Mujeres Premenopáusicas.

- ▶ Tamoxifeno (TAM) es la terapia endocrina adyuvante estándar histórica.
- ▶ La supresión de la función ovárica (SFO) debe considerarse en mujeres \leq de 35 años o con afectación de 4 o más ganglios axilares.
- ▶ Mujeres que reciben quimioterapia, pueden de-sear SFO.
- ▶ La SFO puede realizarse en caso de tratamiento con TAM o inhibidores de la aromatasa (IA).
- ▶ Tener precaución al interpretar los análisis de laboratorio sobre la función pituitaria-ovárica (estradiol, FSH, LH). Se alentó a realizar tratamiento con agonistas de la liberación de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) para alcanzar SFO (sobretudo en tratamientos con IA).

9. Terapia endocrina adyuvante: Mujeres Postmenopáusicas.

- ▶ TAM sigue siendo apropiado para algunas mujeres.
- ▶ IA inicial en mujeres de alto riesgo de recurrencia (puede reducir el riesgo de recurrencia y mejorar la supervivencia en comparación con TAM solo).
- ▶ Favorece el uso de IA: Positividad ganglionar, Ki67 elevado, alto grado histológico, histología lobular y positividad de HER2.
- ▶ Se da importancia a la preferencia del paciente y a la tolerabilidad del tratamiento (TAM vs IA), incluso en alto riesgo.
- ▶ Recomendaciones para tratamientos prolongados (más de 5 años, puede reducir recurrencias loco-regionales, a distancia y contralaterales):
 - Con riesgo de recurrencia moderado-alto (estadio II o III).
 - Que han recibido TAM inicial.

- Beneficios modestos en mujeres que han completado 5 años de IA.
- Premenopáusicas con alto riesgo que han recibido 5 años de TAM, deben extender la hormonoterapia hasta los 10 años.

10. ¿Qué pacientes deben recibir quimioterapia adyuvante?

▼ Cáncer de mama Triple Negativo (TN).

- ▶ Hubo división de opiniones sobre la cuestión del tratamiento del estadio I. Se recomendó quimioterapia adyuvante en los estadios pT1b pN0 y superiores. La mayoría del panel estuvo en contra de la quimioterapia adyuvante de rutina en los estadios pT1a pN0.
- ▶ El panel prefirió la utilización de quimioterapia con antraciclinas y taxanos para la mayoría de las pacientes, pero particularmente para aquellas con enfermedad en estadio II y III.
- ▶ El panel recomendó claramente que no se hiciera uso sistemático de la quimioterapia basada en platino en casos TN no seleccionados. En los cánceres asociados a BRCA1 / 2, el panel se dividió en recomendar la quimioterapia adyuvante con platino, aunque acordó que las pacientes deben recibir quimioterapia con un agente alquilante además de un taxano y una antraciclina.

▼ Cáncer de mama HER2 positivo.

- ▶ El panel recomendó quimioterapia adyuvante y terapia anti-HER2 para HER2 positivo, estadio pT1b pN0 y estadios más altos.
- ▶ Se recomendó no administrar quimioterapia adyuvante rutinaria y el tratamiento anti-HER2 en los estadios pT1a pN0 HER2 positivo.
- ▶ El panel consideró que el régimen de paclitaxel-trastuzumab era suficiente para la mayoría de los cánceres HER2 positivos en estadio I, pero recomendó que el tratamiento anti-HER2 se asociara con otros agentes quimioterapéuticos para los cánceres en estadio II o III.
- ▶ Se recomendó administrar el trastuzumab solo durante un año, basándose en la evidencia actual. En el momento de la conferencia de con-

sensu los datos del ensayo APHINITY no estaban disponibles. En las mujeres que recibieron tratamiento neoadyuvante anti-HER2 con doble bloqueo de trastuzumab y pertuzumab, el panel recomendó completar un año de trastuzumab solo, pero no recomendó el pertuzumab adyuvante basándose en la evidencia actual.

- ▶ La mayoría del grupo aprobó el uso adyuvante de biosimilares de trastuzumab adecuadamente evaluados, de acuerdo con los criterios de extrapolación definidos por las agencias reguladoras.
 - ▶ Hay evidencia de un único ensayo aleatorizado que el tratamiento adyuvante extendido con neratinib después de un año de trastuzumab puede reducir la recurrencia en el cáncer de mama HER2 positivo, particularmente en los cánceres RE+ HER2 positivos. El panel no abordó específicamente el papel de este agente a la espera de posteriores estudios.
- ▼ **Cáncer de mama RE positivo, HER2 negativo.**
- ▶ Las decisiones de tratamiento quimioterápico en las pacientes con RE positivos pueden ser guiadas por inmunohistoquímica en el estudio histológico o por las firmas de expresión génica.
 - ▶ El panel identificó los factores patológicos tradicionales como indicaciones relativas para la quimioterapia adyuvante, incluyendo los ganglios positivos, la invasión linfocelular extensa, Ki-67 elevado y la baja expresión de los receptores hormonales.
 - ▶ La edad joven, per se, no se considera como un único indicador para administrar quimioterapia adyuvante, dada la creciente apreciación de la biología del tumor en todas las edades y la introducción de la doble inhibición hormonal con la supresión ovárica seguida de TAM/IA.
 - ▶ El panel estuvo en contra de la quimioterapia adyuvante en mujeres con cánceres estadio I o II, luminal A (fuertemente ER y PR positivo, HER2 negativo, bajo grado y bajos marcadores de proliferación), especialmente cuando las firmas genéticas predijeron la falta de beneficios para la quimioterapia.
- ▶ El panel no recomendó la quimioterapia adyuvante en mujeres con tumores luminal B con riesgo genético bajo (en las firmas de 21 genes y 70 genes), con afectación ganglionar limitada.
 - ▶ Algunos de los panelistas recomendaron cautela en la indicación o no de quimioterapia adyuvante en pacientes con ganglios positivos, en el subconjunto de tumores RE+/HER2 negativo, N1-3, hasta que se disponga de más datos de expresión génica en mujeres tratadas con y sin quimioterapia, que permitirán desescalar con seguridad el tratamiento. En los casos de riesgo genético intermedio o alto, el panel recomendó la quimioterapia en los cánceres luminal B y/o ganglios positivos.
 - ▶ El panel prefirió la quimioterapia estándar con antraciclina y taxano para la mayoría de los pacientes con cáncer de mama positivo RE+ candidatas a ser tratadas.

11. Terapia neoadyuvante y terapia post-neoadyuvante.

- ▶ El panel apoyó enérgicamente el uso de la terapia neoadyuvante para el estadio II o III, en cáncer de mama HER2 positivo o triple negativo como el enfoque de tratamiento inicial preferido, especialmente cuando hay muchas probabilidades que la respuesta al tratamiento podría permitir desescalar la cirugía o radioterapia.
- ▶ Para los cánceres HER2 positivos, el grupo aprobó el tratamiento neoadyuvante dual anti-HER2 con pertuzumab y trastuzumab con quimioterapia como la opción más recomendada.
- ▶ Para los cánceres de mama tipo triple negativo, el panel recomendó enfoques similares a los que se utilizarían en el tratamiento adyuvante.
- ▶ Las pacientes con cáncer residual después de la quimioterapia neoadyuvante tienen mayor riesgo de recidiva, superior al que tienen las que logran una respuesta patológica completa. En esta coyuntura, no hay datos publicados que avalen la terapia adicional - más allá del tratamiento “estándar” - para reducir el riesgo de recurrencia en las mujeres con enfermedad residual.

- ▶ El panel se mostró ambivalente acerca del papel de la terapia adicional en el contexto post neoadyuvancia, y no hubo consenso sobre si se debía añadir habitualmente terapia adicional o qué tratamiento se podría preferir. Un ensayo reciente utilizó capecitabina en este contexto con resultados muy alentadores, pero los panelistas señalaron la ausencia de un manuscrito publicado y de confirmaciones adicionales. Los ensayos clínicos en curso están evaluando el papel de la escalada terapéutica con diversos tratamientos incluyendo quimioterapias adicionales, agentes dirigidos a dianas, terapias anti-HER2, inhibidores de PARP e inhibidores inmunes.

12. Uso adyuvante del tratamiento modificador de los huesos.

- ▶ Bisfosfonatos como tratamiento adyuvante en mujeres postmeno-páusicas.
- ▶ Ácido zoledrónico cada 6 meses durante 5 años, o clodronato oral diario durante 3 años.
- ▶ No en mujeres premenopáusicas con ciclos menstruales.
- ▶ Para la mayoría del panel sí en mujeres premenopáusicas que reciben supresión de la función ovárica.
- ▶ Denosumab reduce las recurrencias óseas. Solo una minoría del panel prefirió sustituir el denosumab por biofosfonatos.

13. Supervivencia y calidad de vida.

- ▶ El enfriamiento del cuero cabelludo puede reducir la probabilidad de alopecia con la quimioterapia en regímenes sin antraciclinas.
- ▶ No hay datos de que una dieta específica, estilo de vida, o intervenciones en el peso, afecten el riesgo de recurrencia.

14. Consideraciones en poblaciones especiales.

▼ Pacientes de edad avanzada:

- ▶ No hay límite de edad para la quimioterapia adyuvante. Depende de: el estado de salud de la

paciente, el riesgo de recurrencia del cáncer, el beneficio del tratamiento y las preferencias de la paciente.

- ▶ En mayores de 65 años con RE positivo, HER2 negativo, bajo riesgo clínico y/o genómico, la terapia endocrina adyuvante podría omitir la radioterapia en tratamiento conservador (sobre todo en comorbilidades).

▼ Embarazo después del cáncer de mama:

- ▶ Hay pocos datos para valorar el momento óptimo de embarazo.
- ▶ Valorar hormonoterapia adyuvante al menos 18-24 meses antes del embarazo. Reanudar el tratamiento hormonal después del embarazo.

▼ Cáncer de mama masculino:

- ▶ En los casos de RE positivos, se recomienda tamoxifeno.
- ▶ En casos de contraindicación de tamoxifeno se consideró la alternativa con agonistas de la GnRH y un inhibidor de la aromatasa.

▼ Pruebas para el cáncer de mama hereditario:

- ▶ Realizar en mujeres:
 - Con ≤ 40 años independientemente del subtipo de tumor y en mujeres ≤ 60 años con cáncer de mama triple negativo.
 - Que cumplan con criterios para síndromes de cáncer hereditario, mama, ovario, síndrome de Lynch, o con pruebas BRCA1/2 poco informativas.

📖 Bibliografía:

1. Curigliano G, Burstein HJ, Winer EP, et al. The Panel Members of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017. *Ann Oncol* 2017;28(8):1700-12.
2. Gnant M, Harbeck N, Thomssen C. St. Gallen/Vienna 2017: A Brief Summary of the Consensus Discussion about Escalation and De-Escalation of Primary Breast Cancer Treatment. *BreastCare* 2017;12(2):102-7.
3. Morigi C. Highlights from the 15th St. Gallen International Breast Cancer Conference 15-18 March, 2017, Vienna: tailored treatments for patients with early breast cancer. *Ecancermedalscience* 2017;11:732.

▼ Investigación de hallazgos recientes e implicaciones clínicas.

Disciplinas	Hallazgos e implicaciones
• Genética	› Las firmas genéticas para el cáncer de mama hereditario identifican mutaciones en mujeres con historia familiar BRCA 1-2 negativo, también hay variantes de origen desconocido.
• Cirugía del CDIS	› El panel de expertos y un metanálisis recomiendan unos márgenes ≥ 2 mm en mujeres tratadas con cirugía conservadora y RT para el CDIS.
• Tratamiento sistémico del CDIS	› Estudios randomizados comparan el IA anastrozol con el tamoxifeno como tratamiento para CDIS RE+, mostrando que IA son tan eficaces como el tamoxifeno, con efectos secundarios diferentes.
• Cirugía axilar después de tratamiento neoadyuvante	› Estudios prospectivos de GC vs LA en pacientes con ganglios positivos después de neoadyuvancia, mostraron una tasa de falsos negativos en GC superior al 10%. Sin embargo, conocer el drenaje del GC puede ser aceptable en cohortes seleccionadas.
• Radioterapia parcial de la mama (RTP)	› En un estudio randomizado en pacientes de bajo riesgo con cirugía conservadora, la RTP no es inferior a la RT estándar de toda la mama.
• Radioterapia ganglionar regional	› Estudios randomizados demuestran una disminución de las recurrencias locales y a distancia, con una mejor supervivencia para la RT supraclavicular, axilar y mamaria interna, en pacientes de alto riesgo después de la cirugía. Mientras se reduce el riesgo de recurrencia, la RT ganglionar se asoció con un mayor riesgo de toxicidad y puede complicar la cirugía reconstructiva.
• Terapia neoadyuvante: Quimioterapia (QTN)	› La inclusión de carboplatino a la QTN con antraciclinas y taxanos mejora la pCR en TN, con una mejor SLE, aunque cuando reciben tratamiento alquilante el beneficio es menos claro. En un estudio randomizado añadir carboplatino y un inhibidor de PARP, veliparib, mejoró la tasa de pCR en TN. Hubo conclusiones inconsistentes para el uso de nabpaclitaxel en lugar de paclitaxel en QTN.
• Terapia neoadyuvante: HER2	› El estudio NeoSphere sugiere una mejor SLE y un aumento de pCR con pertuzumab y trastuzumab. TDM1 fue menos eficaz para pCR que QT-trastuzumab-pertuzumab. Un estudio randomizado sugiere que el doble inhibidor de tirosin kinasa neratinib, podría mejorar la pCR en comparación con regímenes basados en trastuzumab, se espera confirmación.
• Terapia neoadyuvante: Hormonoterapia	› Añadir inhibidores de la ciclin kinasa CDK4/6 a los IA disminuye significativamente la proliferación de células tumorales. En mujeres con bajo riesgo según firmas genéticas, la HT neoadyuvante se asocia con altas tasas de respuesta clínica.
• Terapia Post neoadyuvante: Ensayos clínicos	› Estudios clínicos en curso están evaluando el tratamiento post- neoadyuvante para pacientes con cáncer residual. Los agentes en investigación incluyen inhibidores CDK 4/6, inhibidores de la poly ADP ribose polymerase (PARP), derivados del platino, TDM1, agentes inmunoterápicos y otros. La capecitabina adyuvante puede reducir las recurrencias en mujeres con cánceres residual después de QTN.
• Terapia adyuvante: Quimioterapia (QT)	› Los estudios ABC sugieren que la inclusión de antraciclinas junto a taxanos y QT alquilante como QTN, sigue siendo valiosa para cánceres TN y RE+ estadio II/III. Añadir bevacizumab a la QT no mejoró los resultados a largo plazo en TN. Capecitabina adyuvante puede reducir las recurrencias en TN cuando se añade a regímenes de QT con antraciclinas y taxanos, y reducir las recurrencias en casos sin pCR en QTN. “Dosis densa” es válida para reducir las recurrencias, mientras que el 5-fluoracilo no altera el riesgo de recurrencia.
• Terapia adyuvante: HER2	› Aunque múltiples estudios demuestran mayores tasas de pCR añadiendo lapatinib a la QTN, el estudio ALTO a largo plazo, no reduce el riesgo de recurrencia con lapatinib adyuvante. El estudio ExtaNet sugiere que el tratamiento prolongado anti-HER2 con un inhibidor doble de la tirosin kinasa, neratinib, reduce el riesgo de recurrencia, sobre todo en tumores RE+ y HER2+, pero se asocia a importantes diarreas. Trastuzumab redujo el riesgo incluso en tumores pequeños, subcentimétricos, ganglios negativos. Paclitaxel y trastuzumab es un régimen efectivo en estadio I con bajas tasas de recurrencia. El doble bloqueo con pertuzumab y trastuzumab mejora los resultados en pacientes con alto riesgo de recurrencia por afectación ganglionar o receptores hormonales negativos.

CONTINÚA >

Disciplinas	Hallazgos e implicaciones
• Terapia adyuvante: Hormonoterapia	<ul style="list-style-type: none"> › Premenopausia. - En cáncer de mama RE+, la supresión ovárica reduce el riesgo de recurrencia, pero se asocia a síntomas de menopausia. › Postmenopausia. - En múltiples estudios el tratamiento hormonal prolongado con IA muestran tasas menores de recurrencia, incluyendo metástasis a distancia y cáncer de mama contralateral, aunque el beneficio absoluto es modesto. › Estudios randomizados muestran equivalencia entre anastrozol y letrozol adyuvante.
• Perfiles genéticos en estadios iniciales: Estudios prospectivos	<ul style="list-style-type: none"> › En el estudio MINDACT, con una firma genética con 70 genes junto con criterios clínicos de riesgo, identifica pacientes con cáncer de mama que no reciben un beneficio sustancial con la QT adyuvante. En el estudio TAILORx y West German Plan B, un score muy bajo por una firma genética con 21 genes, identifica una cohorte de pacientes RE+ con excelente pronóstico solo con HT adyuvante.
• Terapia ósea	<ul style="list-style-type: none"> › Un metanálisis con bisfosfonatos adyuvantes demostró un menor riesgo de recurrencia en mujeres postmenopáusicas. Denosumab puede reducir el riesgo de fracturas óseas y puede reducir el riesgo de recurrencia en mujeres postmenopáusicas.
• Supervivencia	<ul style="list-style-type: none"> › Estudios prospectivos de enfriamiento del cuero cabelludo pueden reducir la incidencia de alopecia en mujeres en estadios iniciales que reciben QT sin antraciclinas. Ejercicio y duloxetine pueden reducir las artralgias asociadas a IA.
• Enfermedad metastásica: Inmunoterapia	<ul style="list-style-type: none"> › Los anticuerpos Programmed death-1 (PD-1) / Programmed death-ligand (PD-L1) han demostrado actividad como agentes únicos o en combinación con QT basada en taxanos en TN.
• Enfermedad metastásica: Inhibidores CDK4/6	<ul style="list-style-type: none"> › Estudios randomizados muestran que añadiendo inhibidores CDK4/6 a la HT de primera o segunda línea mejora la SLP.
• Enfermedad metastásica: Tratamiento HER2	<ul style="list-style-type: none"> › En primera línea T-DM1 pertuzumab no fue superior a QT y trastuzumab o T-DM1 solo. Añadir pertuzumab en segunda línea de QT en pacientes no tratados previamente con pertuzumab tuvo un pequeño beneficio clínico. En el estudio PERTAIN, la adición de pertuzumab al trastuzumab en primera línea y terapia endocrina mejoró la SLP.
• Mecanismos moleculares de resistencia al tratamiento	<ul style="list-style-type: none"> › Las mutaciones activadoras en el gen del RE ESR1 surgen en el 30-40% de las recurrencias en el tratamiento con IA y probablemente representan la resistencia a IA.
• Cáncer de mama metastásico asociado a BRCA	<ul style="list-style-type: none"> › Tumores con BRCA mutado muestran un beneficio para la QT basada en carboplatino en enfermedad metastásica. Añadir veliparib a carboplatino y paclitaxel no aportó una mejora en cáncer de mama BRCA avanzado. Datos preliminares del estudio Olympia sugieren que olaparib es un tratamiento más eficaz en cáncer de mama avanzado con BRCA positivo que las opciones de QT sin platino.
• Enfermedad metastásica: Phosphatidylinositol-4 5-bisphosphate 3-kinase (PI3K)	<ul style="list-style-type: none"> › Las mutaciones PI3K son frecuentes en el cáncer de mama avanzado. Estudios randomizados están evaluando añadir inhibidores PI3K a la HT. Estos agentes varían en su orientación de las isoformas PI3K y los estudios difieren en su inclusión y en la evaluación de los tumores según la mutación PI3K. Puede haber más actividad con agentes alfa selectivos en tumores con mutaciones PI3K.

CDIS: Carcinoma ductal in situ. IA: Inhibidores de la aromatasa. GC: Ganglio centinela. LA: Linfadenectomía axilar. RT: Radioterapia. QTN: Quimioterapia neoadyuvante. pCR: Respuesta patológica completa. TN: Triple negativo. ABC: Adyuvant Breast Cancer. SLE: Supervivencia libre de enfermedad. TDM1: trastuzumab-emtansina. HT: Hormonoterapia. SLP: Supervivencia libre de progresión. RE: Receptor de estrógeno.

Anexo II. Tabla I: Investigación de hallazgos recientes e implicaciones clínicas.

▼ Recomendaciones para el tratamiento loco-regional.

▶ Tratamiento local	▶ Tema	▶ Desescalar	▶ Escalar
• Cirugía primaria en cáncer invasivo	Márgenes	La ampliación y la mastectomía pueden evitarse si el tumor no llega a la tinta	A pesar de biología agresiva, no se tiende a una re-excisión para obtener márgenes más amplios
	Enfermedad multifocal y multicéntrica	Tratamiento conservador + RT si márgenes no afectos	Mastectomía en los otros casos
• Cirugía en CDIS	Márgenes	2 mm de margen es suficiente para evitar segunda cirugía	No se tiende a mayores márgenes
• Cirugía después de QT neoadyuvante si disminuye el estadio en mama y axila	Cirugía de la mama	Resección de la enfermedad residual, no el área del tumor original	Resección del área del tumor original en casos de enfermedad refractaria
	Márgenes	No tumor en la tinta en enfermedad residual unifocal y respuesta concéntrica	Re-excisión en márgenes de 2 mm en enfermedad residual multifocal y respuesta parcheada
	GC en cN- en el diagnóstico	Apropiado en la mayoría de los casos	Linfadenectomía si BGC positiva
	GC en cN+ en el diagnóstico	Apropiado si se detectan 3 ganglios o más como centinelas	Linfadenectomía en la mayoría de los casos, fuera de ensayo clínico
• Radioterapia (RT)	Hipofraccionamiento	Recomendado > 50 años y N0	RT estándar para el resto
	Irradiación parcial de la mama	ASTRO/ESTRO de bajo riesgo con HT adyuvante	RT de toda la mama en los otros casos
	Sobreimpresión	Omitir en ≥ 60 años, bajo grado o perfil biológico favorable	Considerar en todos los demás casos
	RT post-mastectomía	Valorar en pT1, pT2, pN1 (1-3) y perfil biológico favorable	Realizar en pT3 o ≥ 4 ganglios afectados
	Irradiación ganglionar	Considerar no RT en N1 (1-3 ganglios) en ausencia de factores clínicos adversos	Realizar en N1 con factores clínicos adversos (≤ 40 años, RE negativo o bajo, GH 3, invasión info-vascular extensa); o > 3 ganglios afectados

RT: Radioterapia. CDIS: Carcinoma Ductal In Situ. GC: Biopsia del Ganglio Centinela. cN: Ganglio clínico. HT: Hormonoterapia. RE: Receptor de Estrógeno. GH: Grado Histológico.

Anexo II. Tabla II: Recomendaciones para el tratamiento loco-regional.

▼ Definición de los subtipos tumorales.

▸ Grupos clínicos	▸ Notas*
• Triple negativo	Negativos: RE, RP, HER2
• RH – y HER2 +	Guías ASCO/CAP
• RH + y HER2 +	Guías ASCO/CAP
• RH + y HER2 –	RE y/o RP positivo \geq 1%
• Luminal A-like (receptor elevado, bajo grado, baja proliferación)	Firma genética (buena) sí disponible** RE/RP altos, Ki 67 claramente bajo o bajo grado (GH).
• Intermedio	Firma genética (intermedia) sí disponible. Persiste la incertidumbre sobre el grado de riesgo y la capacidad de respuesta a terapias citotóxicas.
• Luminal B-like (receptor bajo, alto grado, alta proliferación)	Firma genética (mala) sí disponible. RE/RP bajos, Ki 67 claramente elevado y GH 3.
*El subtipo Basal y el subtipo HER2 enriquecido solo se pueden definir mediante firmas genéticas. **No realizar firma genética en casos clínico patológicos de bajo riesgo (pT1a, pT1b, GH1, RE elevado, pN0). RH: Receptor hormonal. RE: Receptor estrógeno. RP: Receptor progesterona.	

Anexo II. Tabla III: Definición de los subtipos tumorales.

▼ **Recomendaciones para el tratamiento neoadyuvante en cáncer de mama inicial con RE positivo/HER2 negativo.**

▸ Subtipos según el riesgo clínico, patológico y genético	▸ Recomendaciones de tratamiento	▸ Desescalar	▸ Escalar
Receptor elevado, baja carga tumoral (pT1a, pT1b), sin invasión ganglionar (pN0), bajo grado, baja proliferación o bajo riesgo genético	Sólo HT acorde con el estado menopáusico		
• Premenopausia	▸ TAM 5 años	▸ No TAM más de 5 años ▸ No SFO	
• Postmenopausia	▸ TAM 5 años ▸ IA si TAM está contraindicado o no se tolera	▸ La mayoría del panel estuvo en contra de prolongar más de 5 años la HT	
RE y RP elevado o intermedio, carga tumoral intermedia [pT1c, pT2, pN0 o pN1 (1-3)], índice de proliferación o grado histológico intermedio o alto y/o riesgo genético intermedio.	Sólo HT acorde con el estado menopáusico		
• Premenopausia ▸ Riesgo clínico incierto (N-) ▸ Riesgo genético intermedio	▸ SFO + TAM o ▸ SFO + exemestano		▸ Añadir QT en casos seleccionados ▸ TAM > 5 años en algunos casos
• Premenopausia ▸ Riesgo clínico intermedio/alto (N+), Riesgo genético intermedio/alto	▸ SFO + exemestano más QT en muchos casos		▸ QT ▸ HT prolongada con TAM
• Postmenopausia ▸ Riesgo clínico incierto (N-) ▸ Riesgo genético intermedio	▸ IA ▸ QT en muchos casos		▸ Bisfosfonatos
• Postmenopausia ▸ Riesgo clínico intermedio/alto (N+), Riesgo genético intermedio/alto	▸ QT ▸ IA como primera HT durante al menos 3-5 años		▸ Prolongar IA según el riesgo y tolerancia ▸ Bisfosfonatos y denosumab reducen los eventos óseos

HT: Hormonoterapia. TAM: Tamoxifeno. SFO: Supresión de la función ovárica. IA: Inhibidores aromatasa. RE: Receptor de estrógeno. RP: Receptor de progesterona. QT: Quimioterapia.

Anexo II. Tabla IV: Recomendaciones para el tratamiento neoadyuvante en cáncer de mama inicial con RE positivo/HER2 negativo.

▼ Recomendaciones para el tratamiento adyuvante en cáncer de mama inicial triple negativo y HER2 positivo

▸ Subtipos según el riesgo clínico, patológico y genético	▸ Recomendaciones de tratamiento	▸ Desescalar	▸ Escalar
DUCTAL TRIPLE NEGATIVO			
• pT1a pN0		▸ No QT adyuvante de rutina	
• Estadio T y N altos	▸ Se recomienda el tratamiento neoadyuvante en estadios II o III como opción inicial ▸ QT debería incluir antraciclina y taxanos	▸ Sólo una minoría del panel prefiere dosis densa en la QT adyuvante	▸ No consenso en el tratamiento de la enfermedad residual post-neoadyuvancia ▸ En tumores BRCA1/2, el panel se dividió en recomendar QT (neo)-adyuvante con platino, pero estuvo de acuerdo en QT con alquilantes
RE NEGATIVO Y HER2 POSITIVO			
• pT1a Ganglios negativos	▸ No tratamiento sistémico	▸ No tratamiento sistémico	
• pT1b, c Ganglios negativos	▸ QT más trastuzumab	▸ Considerar paclitaxel más 1 año de trastuzumab sin antraciclina	▸ Doble bloqueo con trastuzumab más pertuzumab mejora el resultado en pacientes de alto riesgo de recurrencia por ganglios positivos y RH negativos*
• T y N altos	▸ Tratamiento neoadyuvante en estadios II y III ▸ Preferible antraciclina + taxanos junto a trastuzumab 12 meses	▸ Las pacientes pueden ser tratadas con TCH	▸ El doble bloqueo con trastuzumab más pertuzumab con QT es la opción preferida en neoadyuvancia. Doble bloqueo con trastuzumab más pertuzumab mejora el resultado en pacientes de alto riesgo de recurrencia por ganglios positivos y RH negativos*
RE POSITIVO Y HER2 POSITIVO			
• RE positivo • HER2 positivo	▸ Tratamiento anterior más HT según el estado menopáusico		▸ Tratamiento adyuvante con neratinib después de 1 año de trastuzumab puede reducir recurrencias en el subgrupo RE+*

QT: Quimioterapia. RH: Receptores hormonales. RE: Receptor de estrógeno.

* El panel no respondió a la pregunta sobre el doble bloqueo en la adyuvancia, ya que no se disponía de datos sobre el ensayo APHINITY. El panel no respondió a la pregunta sobre el tratamiento adyuvante extendido con neratinib.

Anexo II. Tabla V: Recomendaciones para el tratamiento adyuvante en cáncer de mama inicial triple negativo y HER2 positivo.

▼ Factores que afectan la indicación de quimioterapia en pacientes con enfermedad RE positivo, HER2 negativo.

Indicaciones relativas para QT en adición a la HT	Áreas de incertidumbre para la indicación de QT en adición a HT	Indicaciones relativas para HT sola
Grado histológico 3 Riesgo genético alto o intermedio	Grado histológico 2 Riesgo genético intermedio	Grado histológico 1 Riesgo genético bajo
Proliferación alta*	Proliferación intermedia*	Proliferación baja*
RE y RP bajos	RE y RP alto/intermedio	RE y RP altos
≥ 4 ganglios afectados	1-3 ganglios afectados	Ganglios negativos
Presencia de invasión vascular peritumoral extensa		No invasión vascular peritumoral extensa
pT > 5 cm.	pT 2,1 – 5 cm.	pT ≤ 2 cm.

QT: Quimioterapia. HT: Hormonoterapia. RE: Receptor de estrógeno. RP: Receptor de progesterona.

*Ki67 debe interpretarse según los valores del laboratorio local. Ejemplo, si un laboratorio tiene una puntuación media Ki67 en la enfermedad positiva al receptor del 20%, los valores de 30% o más podrían considerarse claramente altos; los del 10% o menos claramente bajos.

Anexo II. Tabla VI: Factores que afectan la indicación de quimioterapia en pacientes con enfermedad RE positivo, HER2 negativo.





**Sociedad Española
de Senología y Patología Mamaria**