

REVISIÓN

Micrometástasis en médula ósea: significado pronóstico en cáncer de mama

J. A. Pérez-Fidalgo, I. Benet, B. Bermejo, I. Chirivella, A. Bosch, A. Lluch

Servicio de Oncología y Hematología. Hospital Clínico Universitario. Valencia

INTRODUCCIÓN

Con frecuencia, el desarrollo de metástasis a distancia en la historia natural de una enfermedad neoplásica constituye el momento a partir del cual la estrategia terapéutica de los tumores sólidos deja de ser curativa y pasa a ser exclusivamente paliativa. La recaída a distancia puede ocurrir incluso años después del tratamiento del tumor primario.

En el caso del cáncer de mama, la aparición de metástasis tras la cirugía del primario es un hecho que ocurre en hasta un tercio de las pacientes con ganglios negativos al diagnóstico (1). Este elevado porcentaje de recaídas en pacientes con ganglios negativos se atribuye a una temprana diseminación hematógena.

Ya en los años 60, experimentos realizados en animales (2) y ratificados posteriormente por estudios inmunohistoquímicos (3,4) y moleculares (5,6) han demostrado que la afectación axilar no es un factor predictivo de la diseminación hematógena y que esta no se asocia necesariamente con afectación axilar.

El término micrometástasis o enfermedad mínima residual (EMR) es un concepto desarrollado principalmente en neoplasias hematológicas y se define por la persistencia de enfermedad subclínica tras el tratamiento sólo detectable mediante técnicas sofisticadas. Esta enfermedad mínima es un indicador de que antes o después, y con mayor o menor probabilidad, se producirá una recaída que será clínicamente manifiesta.

Con la intención de establecer factores de valor pronóstico de diseminación hematógena se realizaron varios

estudios (7,8) que establecieron que la EMR de cáncer de mama en médula ósea podía ser considerada como un precursor del desarrollo de metástasis hematógenas a distancia. Estos estudios demostraron que la detección precoz de micrometástasis en médula ósea junto con los factores pronósticos moleculares del primario y la afectación axilar permitía estratificar el riesgo de recaída de una forma mucho más exacta. De esta forma la detección de la EMR en médula ósea cubría las carencias pronósticas del simple estudio ganglionar axilar en el cáncer de mama en estadios iniciales.

PRESENCIA DE EMR EN CÁNCER DE MAMA

Las revisiones durante los años 90 realizadas por Pantel (9), Jauch (10) y Moss (11) ya recogían trabajos que describen una tasa de detección de células tumorales diseminadas (CTD) en médula ósea de entre un 17-48% en pacientes con cáncer de mama en estadios iniciales y ganglios negativos. Dicha proporción aumentaba a un 30-40% en cáncer de mama con afectación axilar y era próxima al 70% en casos de enfermedad diseminada.

No obstante, la detección de CTD en médula ósea tiene aún hoy día diversas dificultades y limitaciones técnicas. Por ejemplo, es imposible actualmente diferenciar qué CTD morirá como resultado de un proceso de apoptosis y qué célula desarrollará una capacidad de metastatizar a distancia. De hecho, algunas CTD en médula ósea permanecen en un estado "durmiente" y tras un periodo indeterminado de latencia se convierten en células tumorales virulentas con potencial maligno (12).

TÉCNICAS DE DETECCIÓN DE CTD DE MÉDULA ÓSEA

Aunque han aparecido numerosos estudios clínicos y metodológicos sobre las micrometástasis en médula ósea,

Recibido: 03-12-07.

Aceptado: 17-12-07.

Correspondencia: José Alejandro Pérez-Fidalgo. Servicio de Oncología y Hematología. Hospital Clínico Universitario. C/ Blasco Ibáñez, s/n 46010. Valencia. e-mail: japfidalgo@msn.com

aún no hay un consenso sobre cuál es la mejor técnica para extracción de material de médula ósea.

En los primeros estudios se realizaban aspirados de entre 6 y 8 localizaciones distintas, dos de esternón, dos de sacro y dos de cresta ilíaca anterior y posterior (13). Sin embargo hoy en día la mayoría de los grupos aceptan la toma de muestras de sólo dos localizaciones, o ambas crestas ilíacas anteriores o de ambas crestas ilíacas posteriores. Se recomienda la extracción de entre 3-5 ml de médula ósea en cada aspirado.

Casi todos los grupos utilizan la centrifugación sobre un gradiente de densidad Ficoll para la separación celular. Con menor frecuencia se realiza en su lugar una destrucción de eritrocitos mediante un *buffer* lisante pero esta técnica, más agresiva, ha demostrado además ser menos eficaz (14).

Las células de interfase son aplicadas sobre portas para microscopia mediante la técnica del citospin. Esta técnica tiene la ventaja de la cuantificación exacta del número de células aplicadas en cada porta. Se realiza sobre cada porta una extensión de 2×10^6 células divididas en dos pocillos (10^6 células por cada pocillo).

Algunos grupos (15) han empleado la biopsia de cresta iliaca en lugar del aspirado de médula ósea. El análisis de la presencia de CTD se realizaba mediante estudio histológico de los cortes de biopsia. La principal desventaja de esta técnica radica en la mala aceptación como consecuencia de lo traumático de la prueba.

INMUNOCITOQUÍMICA Y ANTICUERPOS

La detección celular mediante técnicas de inmunocitología se basa en la unión específica de anticuerpos a proteínas de membrana o de estructura de las CTD, sin que exista reacción cruzada con las células mesenquimales y otras células normales de la médula ósea. Tras unión del anticuerpo con la célula tumoral, la identificación de dicha célula se realiza mediante la adición de una solución de tinción que se une al anticuerpo adherido a la CTD, lo que permite su fácil visualización mediante microscopía óptica.

Uno de los mayores obstáculos a la hora de establecer conclusiones entre los distintos estudios sobre EMR en cáncer de mama es la gran variedad de anticuerpos distintos empleados en la identificación de las CTD. Dicha diversidad de anticuerpos dificulta la comparación de resultados entre los distintos grupos e incluso la realización de meta-análisis. No obstante los distintos tipos de anticuerpos se pueden dividir en dos grupos:

–*Anticuerpos frente a proteínas de membrana:* este grupo reconoce habitualmente glicoproteínas o glicolípidos de membrana, mucinas o globulinas. Entre estos anticuerpos se encuentran el EMA, CEA, 2E11, MFGM, HMFG (*human milk fat globulin*). Varias publicaciones (16) han hecho referencia a posibles reacciones cruzadas de estos anticuerpos con proteínas de

membrana de células normales como eritroblastos, normoblastos o mieloblastos, lo que aumenta la tasa de falsos positivos.

–*Anticuerpos frente a citoqueratinas del citoesqueleto celular:* la familia de anticuerpos anticitoqueratinas han demostrado ser altamente específicos atribuyéndoseles una tasa de falsos positivos inferior al 5%, sin embargo tienen el inconveniente de que pueden ser poco sensibles (17). Por ello algunos autores recomiendan el uso de anticuerpos contra diversas citoqueratinas, para aumentar la sensibilidad de la técnica. Entre esta familia de anticuerpos se encuentran el CAM-5.2 (*cellular adhesion molecule*), el AE-1, AE-3, CK-2 y el A45/B3 entre otros.

En resumen, el tipo de anticuerpo óptimo para la detección de la EMR en cáncer de mama no ha sido claramente establecido. Parece que los anticuerpos anticitoqueratina por su especificidad serían los de elección, sin embargo muchos estudios que valoran el impacto pronóstico de la EMR han sido realizados con anticuerpos frente a moléculas de membrana como los anticuerpos EMA o 2E11.

ANÁLISIS DE LAS PREPARACIONES CELULARES

Una vez realizada las extensiones y la detección con anticuerpos de las posibles células epiteliales se realiza una evaluación mediante microscopía óptica de las preparaciones. Los portas deben de ser analizados por un evaluador experto. Se recomienda que sean sometidos a examen entre 2 y 4 portas con un total de 2×10^6 células por porta. Además para evitar falsos positivos, cada paciente debe de tener un control de tinción negativo con 2×10^6 células (18).

Para facilitar el proceso de lectura de los preparados celulares, algunos grupos (19) han empleado nuevos métodos de detección mediante sistemas digitales de imagen con la intención de identificar las CTD marcadas con los anticuerpos. Estos nuevos apoyos tecnológicos permiten disminuir el tiempo de evaluación microscópica y aportan considerables ventajas como es el aumento de la sensibilidad, y reproductibilidad de los resultados así como una mejor caracterización morfológica de las células identificadas.

Los falsos positivos son frecuentes durante la evaluación microscópica, de hecho en una revisión publicada por Smerage y cols. (20), se asumía que en los primeros estudios realizados sobre EMR en médula ósea la tasa de falsos positivos era de entre un 22 y un 61%. Para evitar un sobrediagnóstico de CTD en las muestras de aspirado como consecuencia de falsos positivos se recomienda en todo caso una exhaustiva evaluación celular morfológica que descarte o confirme que dicha célula se trate de una micrometástasis. La tabla I resume las características citomorfológicas de la CTD.

Tabla I. Características citomorfológicas y fenotípicas de las células tumorales diseminadas (CTD) detectadas mediante técnicas de inmunohistoquímica mediante el uso de anticuerpos anticitoqueratina (tomado de Fehm y cols.) (18)

- Disposición en racimo (o clúster)
- Tamaño nuclear aumentado
- Citoplasma teñido fuertemente o irregularmente por citoqueratina
- Filamentos de citoqueratina intracitoplasmáticos
- Tinción cubre parcialmente el núcleo
- Nucleolo de gran tamaño
- Elevado ratio núcleo-citoplasma
- Núcleo granular

MÉTODOS BIOLÓGICOS DE DETECCIÓN DE CÉLULAS TUMORALES

Existen otros métodos para la detección de CTD en médula ósea al margen de las técnicas de inmunohistoquímica. No obstante pocos estudios han empleado estas técnicas para el estudio de la EMR en cáncer de mama.

En lugar de identificar una proteína de membrana o estructural, los métodos biológicos tienen por objeto la identificación celular a partir del mRNA de la célula tumoral. La técnica más empleada de este tipo es la RT-PCR (*reverse transcriptase – polymerase chain reaction*).

CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LAS CÉLULAS TUMORALES

Técnicas recientemente desarrolladas permiten el examen genético de una célula tumoral detectada en médula ósea. Mediante el empleo de un proceso que combina la inmunocitoquímica y la técnica FISH (*fluorescence in situ hybridization*) varios grupos han detectado la presencia de aberraciones cromosómicas en células tumorales citoqueratina positivas detectadas en médula ósea y suero de pacientes con cáncer de mama, confirmando el origen maligno de dichas células (21). La presencia de nuevos protocolos que permiten la amplificación de todo el genoma celular de una CTD han permitido obtener interesantes resultados. Por ejemplo, Klein (6) demostró con estas técnicas en pacientes con cáncer de mama sin metástasis al diagnóstico que las células citoqueratina positivas detectadas en médula ósea tenían un origen genético muy heterogéneo. Una posible explicación para esta diversidad genética de las células diseminadas a médula, es que estas podrían haberse separado del tumor primario en un estadio inicial, evolucionando independientemente e influenciadas por las especiales circunstancias medioambientales de la médula ósea.

Sin embargo a pesar del desarrollo de nuevos métodos genéticos sigue siendo objeto de controversia si las CTD tienen un potencial de desarrollar en el futuro una metástasis a distancia o cuál de las alteraciones genómicas de-

tectadas en estas células en los estudios referidos tiene realmente una relevancia clínica.

IMPACTO PRONÓSTICO DE LA PRESENCIA DE CTD EN MÉDULA ÓSEA EN EL MOMENTO DEL DIAGNÓSTICO

Existen innumerables trabajos que han intentado evaluar la importancia pronóstica de la detección de CTD en médula ósea de pacientes con cáncer de mama en el momento del diagnóstico.

La crítica de estos estudios es una vez más la gran heterogeneidad de técnicas empleadas y el escaso tamaño muestral de la mayoría de las series. Esto se refleja en la disparidad de tasas de detección de CTD que oscila entre 1-43%.

Algunos de estos estudios, la mayoría unicéntricos, consiguieron demostrar un impacto en la supervivencia libre de enfermedad (SLE) y la supervivencia global (SG) (7,22-26) mientras que otros en cambio fracasaron, no detectando diferencias significativas en las pacientes con o sin médula ósea infiltrada (27-29).

Además, de aquellos estudios que demostraron un impacto sobre la supervivencia libre de enfermedad (SLE) y la supervivencia global (SG), sólo unos pocos detectaron que la EMR era un factor pronóstico independiente en el análisis multivariado (4,8,30-33).

Los resultados y las características de los estudios más importantes sobre la relevancia pronóstica de la detección de CTD en médula ósea se resumen en la tabla II.

Debido a la heterogeneidad de resultados la verdadera importancia clínica de la afectación de médula ósea ha sido muy cuestionada. Uno de los elementos que más dificulta la interpretación de los múltiples estudios sobre EMR en médula ósea es la diversidad de anticuerpos empleados para identificar las células. Como hemos comentado anteriormente existe una gran variabilidad de anticuerpos empleados en la detección de CTD en médula ósea. Esta variabilidad metodológica ha supuesto una importante variable de confusión. Las diferencias eran tales que la tasa de detección de células oscilaba entre un 4-48% en poblaciones similares según la técnica empleada (34).

En 1998 Funke y cols. (35), comunicaron los resultados de un meta-análisis de 2.494 pacientes de 20 estudios en el que no se confirmó la importancia pronóstica de la detección de CTD en médula ósea de pacientes con cáncer de mama. La crítica fundamental a este meta-análisis se basó en que la enorme heterogeneidad en las técnicas inmunocitoquímicas de los distintos estudios analizados podía constituir un importante sesgo en los resultados.

En 2005, Braun y cols. (36) desarrollaron un meta-análisis basándose en 9 estudios de distintos grupos europeos (4,8,26,30,32,33,37) y norteamericanos (38) iniciados en los años 80 y 90. Cada uno de estos 9 estudios

Tabla II. Estudios que evalúan la relevancia pronóstica de la EMR en médula ósea en pacientes con cáncer de mama en el momento del diagnóstico (tomado de Fehm y cols.) (18)

Referencia	Nº de pacientes	Tasa de detección (%)	Anticuerpo/antígeno diana	Material	Impacto pronóstico
Coombes y cols., 1986 (22)	269	23	E29	Aspirado	SLE
Schlimok y cols., 1987 (23)	155	18	CK18	Aspirado	SLEd
Porro y cols., 1988 (27)	159	16	Mbr1	Biopsia	NS
Salvadori y cols., 1990 (28)	121	17	Mbr1	Biopsia	NS
Mathieu y cols., 1990 (29)	93	1	KL1	Biopsia	NS
Dearnaley y cols., 1991 (24)	37	33	EMA	Aspirado	SLE. SG.
Cote y cols., 1991 (7)	49	37	T16, C26, AE1	Aspirado	SLE. SG.
Wiedswang y cols., 2003 (3)	817	13	AE1, AE3	Aspirado	SLEd. SG*.
Harbeck y cols., 1994 (31)	100	38	E29, 12H12	Aspirado	SLE. SG*.
Diel y cols., 1998 (8)	727	43	TAG12/ 2E11	Aspirado	SLE. SG*.
Funke y cols., 1996 (25)	234	38	CK18	Aspirado	NR
Mansi y cols., 1999 (26)	350	25	E29	Aspirado	SLE. SG.
Braun y cols., 2000 (32)	552	36	A45-B/B3	Aspirado	SLEd. SG*.
Gerber y cols., 2001 (4)	554	31	CK8, CK18, CK19	Aspirado	SLE. SG*.
Gebauer y cols., 2001 (33)	393	42	CK/EMA	Aspirado	SLE *. SG.
Braun y cols., 2005 (meta-análisis) (36)	4.703	31	CK, mucina	Aspirado	SLEd. SG.

SLE: supervivencia libre de enfermedad; SLEd: supervivencia libre de enfermedad a distancia; SG: supervivencia global; *: estadísticamente significativo en el análisis multivariante; NS: no significativo; NR: no realizado.

presentaba un tamaño muestral de entre 270 y 758 pacientes. La metodología empleada para la detección de micrometástasis fue en 6 de los estudios con técnicas basadas en citoqueratina mientras que en los otros 3 eran técnicas de detección basadas en mucina. El tamaño muestral final fue de 4.703 pacientes con cáncer de mama estadios I, II y III a las que se les había realizado aspirado de médula ósea en el momento del diagnóstico. El seguimiento medio fue de 5,2 años.

La tasa de detección de CTD fue del 30,6% (1.438 pacientes con médula ósea positiva). El análisis estratificado por factores pronósticos demostró que la presencia de micrometástasis era significativamente más frecuente en pacientes jóvenes, con tumores de gran tamaño, ganglios positivos, grado histológico III, y con receptores negativos. Sin embargo no había relación con el tipo histológico. En este estudio, la presencia de CTD en médula ósea se identificó como un factor pronóstico independiente con un riesgo relativo de muerte por enfermedad de 2,44 y un riesgo de recaída de 2,13.

El meta-análisis de Braun confirmó que las micrometástasis constituyen un factor pronóstico desfavorable estadísticamente significativo incluso en el análisis multivariado, de importancia similar a la de otros factores de importancia pronóstica ampliamente demostrada como el tamaño tumoral, grado histológico, estatus ganglionar y receptores hormonales.

El tiempo hasta la recaída local y a distancia fue claramente inferior en las pacientes con micrometástasis, constituyendo un factor predictivo de recaída que fue significativo durante los 4 primeros años del seguimiento.

Este estudio además extrajo importantes conclusiones en el análisis por subgrupos, así por ejemplo, en el grupo de pacientes de bajo riesgo compuesto por 1.036 mujeres

con tumores iniciales menores de 2 cm y con ganglios negativos (T1N0) la presencia de CTD también se reveló como un importante factor pronóstico negativo con un incremento de un 3,65 veces de mortalidad por cáncer de mama y de 2,00 veces de recaída a distancia en los primeros 5 años de seguimiento.

Estos resultados demostraron la importancia pronóstica de la EMR en cáncer de mama, tanto en supervivencia como de tiempo libre de recaída (local o a distancia), y además establecieron la hipótesis de que la detección de CTA pueda constituirse en un elemento de decisión para el establecimiento del tratamiento adyuvante en pacientes con tumores de bajo riesgo (T1N0).

No obstante este trabajo tampoco está exento de críticas. Algunas son inevitables teniendo en cuenta que los estudios hasta la fecha habían empleado distintas técnicas de inmunohistoquímica, por lo que a la fuerza el meta-análisis refleja una heterogeneidad de técnicas empleadas en la detección de las CTD (3 estudios emplearon técnicas basadas en mucina y otros 6 basadas en citoqueratina). De igual modo el largo periodo de reclutamiento de algunas de las series (en algún caso iniciado en los años 80) motiva que varias de las pacientes analizadas no hayan recibido terapia actualmente considerada estándar en la actualidad.

Aun a pesar de estas objeciones, se acepta, a la luz de los resultados del meta-análisis de Braun, que la detección de CTD en el momento del diagnóstico de cáncer de mama tiene una relevancia pronóstica que incluso algunos autores consideran comparable al estatus ganglionar. De hecho, en los resultados de este estudio el riesgo relativo de muerte por cáncer de mama era 1,93 veces superior si existían CTD en médula ósea (el riesgo era sólo 1,71 en ganglios positivos frente a negativos indepen-

dientemente de la existencia de EMR en médula ósea).

Estos estudios sientan la base para establecer la determinación de CTD en médula ósea como un elemento más en la clasificación pronóstica de las pacientes diagnosticadas de cáncer de mama en estadios iniciales e incluso como factor de decisión a la hora de establecer la pertinencia de un tratamiento adyuvante.

Queda aún pendiente de definir su posible utilidad en tumores diseminados y su correlación con la presencia de células tumorales en sangre periférica, lo cual permitiría evitar la realización de los molestos aspirados medulares.

MICROMETÁSTASIS Y TRATAMIENTO DEL CÁNCER

El nuevo objetivo de los estudios de detección de CTD en médula ósea fue el analizar la capacidad de la presencia o ausencia de micrometástasis como factor predictivo de respuesta al tratamiento instaurado.

La mayor parte de los estudios que evalúan el significado de las CTD como factor predictivo de respuesta se han realizado en sangre periférica. Cabe destacar al respecto el estudio de Stathopolou y cols. (39), que analizaron mediante RT-PCR muestras de sangre de 77 pacientes con cáncer de mama en estadio inicial antes y después de la instauración del tratamiento adyuvante. Los resultados demostraron que tanto el número de pacientes positivos para micrometástasis (31,5 a 6,5%) como la intensidad de dicha positividad se reducía de forma significativa tras el tratamiento adyuvante.

Sin embargo otros estudios como el de Slade y cols. (40), que analizaron aspirados de médula a los 3, 6, 12, 24, 36 y 48 meses tras cirugía de un tumor primario de mama, detectaron que un porcentaje importante de pacientes presentaba EMR a lo largo de 4 años a pesar del tratamiento adyuvante. Se consideró que una posible razón para este hecho es el desarrollo de resistencia de las micrometástasis a los tratamientos citotóxicos convencionales.

Por último, Cristofanilli y cols. (41), mediante técnicas de inmunohistoquímica con anticuerpos pan-citoqueratina en muestras de sangre periférica de 177 pacientes con cáncer de mama metastásico demostró que el número de CTD estaba en relación con la SG y SLE. Además, mediante controles mensuales de sangre periférica la carga de CTD podía ser considerada un elemento útil para monitorizar la respuesta a tratamiento.

EMR EN MÉDULA ÓSEA Y SEGUIMIENTO

Los resultados que avalaban el valor pronóstico de la EMR en médula ósea de pacientes con cáncer de mama en el momento del diagnóstico sentaron las bases para el establecimiento de la hipótesis de que si la persistencia de CTD durante el seguimiento de la enfermedad podría

tener igualmente un impacto pronóstico desfavorable y ser un factor predictor de recaída.

Ya en el 2004, Wiedswang y cols. (42) demostraron que la presencia de CTD en médula ósea de pacientes que habían recibido tratamiento para cáncer de mama 3 años antes constituía un factor pronóstico independiente de recaída.

Posteriormente, Janni y cols. (43) analizaron los aspirados de 228 pacientes realizados durante el periodo de seguimiento libre de recaída. Todas las pacientes habían sido diagnosticadas y tratadas de un cáncer de mama en estadios iniciales (pT1-T2 N0-3 M0). Los aspirados de estas pacientes fueron realizados a los $21,3 \pm 29,1$ meses de la recaída (intervalo medio \pm desviación estándar). La detección de las CTD en este estudio se realizó con técnicas de inmunohistoquímica mediante el empleo de anticuerpos anticitoqueratina A45-B/B3. Los resultados del trabajo de Janni demostraron una dramática disminución de la supervivencia global en las pacientes que expresaban CTD en médula ósea durante el seguimiento, con una supervivencia media de 98,7 meses frente a los 162,1 meses en las pacientes con médula negativa. Igualmente la presencia de micrometástasis en médula ósea se estableció como factor predictor independiente de reducción de la SG y de la SLE en el análisis multivariado. Finalmente, se consideró que el intervalo de mayor relevancia pronóstica en el caso de detectar CTD en médula ósea era entre los 25 y los 42 meses desde el momento del diagnóstico. La presencia de micrometástasis en este intervalo suponía un riesgo de recaída de 7,68 veces superior a las pacientes con médula ósea libre de enfermedad.

Estos controvertidos resultados han favorecido el establecimiento de nuevas cuestiones. En primer lugar, hasta qué punto sería recomendable el establecimiento de aspirados rutinarios de médula ósea en aquellas pacientes diagnosticadas de cáncer de mama y especialmente durante el periodo entre los 25 y los 42 meses tras la cirugía. En segundo lugar, si sería preciso el establecimiento de ensayos clínicos que investiguen el beneficio de realizar una "segunda adyuvancia" en aquellas pacientes en las que la médula ósea sea positiva.

Algunos autores (44) consideran los resultados del estudio de Janni demasiado optimistas como para establecer un "seguimiento medular" en pacientes con cáncer de mama de forma rutinaria. Las críticas que estos autores presentan son, por un lado, las dificultades metodológicas de estos estudios que producen a su juicio una sobreestimación debida a un elevado número de falsos positivos de las técnicas de inmunohistoquímica ocasionados por una reacción cruzada de los anticuerpos con la fosfatasa alcalina de las células plasmáticas maduras. Por otro lado, los críticos con el trabajo de Janni, consideran que no todas las CTD detectadas en médula ósea son necesariamente células tumorales con potencial metastático, ya que muchas son células apoptóticas. En base a esto no estaría justificado plantear un tratamiento activo en virtud a la presencia de CTD en médula ósea sin conocer con

exactitud si dicha célula positiva para citoqueratinas tendrá o no potencial de malignización.

CONCLUSIONES

Salvando las importantes dificultades técnicas y metodológicas de la detección de CTD de cáncer de mama que habían bloqueado la posibilidad de establecer serias conclusiones respecto al verdadero valor de la EMR, en los últimos años han surgido una serie de estudios solventes que han arrojado con cierta autoridad resultados prometedores para el manejo del cáncer de mama.

Así por ejemplo el meta-análisis de Braun y cols. (36) ha demostrado que la presencia de micrometástasis en médula ósea tiene relevancia pronóstica.

Respecto a la utilidad de la EMR como factor predictor de respuesta al tratamiento, los datos son aún algo controvertidos. No obstante, los resultados del trabajo de Cristofanilli y cols. (41) en sangre periférica parecen avalar esta hipótesis aunque aún se trata de un trabajo uniccéntrico y con un tamaño muestral discreto.

Finalmente Janni y cols. (43) demostraron que la detección de CTD en médula ósea durante el seguimiento del cáncer de mama libre de recaída también tenía un valor pronóstico y predictor de recaída.

A la luz de estos estudios, todo apunta a que en un futuro para una precisa evaluación del tratamiento adyuvante será necesaria además de los factores pronósticos moleculares del tumor primario y el estatus ganglionar, un estudio del grado de diseminación hematogena mediante el estudio de la EMR.

BIBLIOGRAFÍA

- Rosner D, Lane WW. Predicting recurrence in axillary-node negative breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 1993; 25: 127-39.
- Fisher B, Fisher ER, Guzman C, Copeland CE, Caceres C. The dissemination of subcutaneously inoculated tumor cell suspensions. *Arch Surg* 1969; 98: 347-51.
- Braun S, Cevatli BS, Assemi C, Janni W, Kantenich CR, Schindlbeck C, et al. Comparative analysis of micrometastasis to the bone marrow and lymph nodes of node negative breast cancer patients receiving no adjuvant therapy. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1468-79.
- Gerber B, Krause A, Muller H, Richter D, Reimer T, Makovitzky J, et al. Simultaneous immunohistochemical detection of tumor cells in lymph nodes and bone marrow aspirates in breast cancer and its correlation with other prognostic factors. *J Clin Oncol* 2001; 19: 960-71.
- Wölffe U, Cloos J, Sauter G, Riethdorf L, Jänicke F, Van Diest P, et al. Molecular signature associated with bone marrow micrometastasis in human breast cancer. *Cancer Res* 2003; 63: 5679-84.
- Klein CA, Blankenstein T, Schmidt-Kittler O, Petronio M, Polzer B, Stoecklein NH, et al. Genetic heterogeneity of single disseminated tumour cells in minimal residual cancer. *Lancet* 2002; 360: 683-9.
- Cote RJ, Rosen PP, Lesser MI, Old LJ, Osborne MP. Prediction of early relapse in patients with operable breast cancer by detection of occult bone marrow micrometastases. *J Clin Oncol* 1991; 9: 1749-56.
- Diel IJ, Kaufman M, Costa SD, Holle R, von Minckwitz G, Solomayer EF, et al. Micrometastatic breast cancer cells in bone marrow at primary surgery: Prognostic value in comparison with nodal status. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 1652-8.
- Pantel K, Von Knebel Doeberitz M. Detection and clinical relevance of micrometastatic cancer cells. *Curr Opin Oncol* 2000; 12: 95-101.
- Jauch KW, Friess S, Grützner U, Heiss M, Funke I. Prognostic significance of micrometastases. *Onkologie* 1995; 18: 525-32.
- Moss T. Clinical relevance of minimal residual cancer in patients with solid malignancies. *Cancer and Metastasis Reviews* 1999; 18: 91-100.
- Diel IJ, Neumaier M, Schütz F. Bone marrow micrometastases and circulating tumour cells. In: Harris JR, Lippman ME, Morrow M, Osborne CK, editors. *Diseases of the breast*. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins; 2004. p. 697-707.
- Redding WH, Coombes RC, Monaghan P, Clink HM, Imrie SF, Dearnaley DP, et al. Detection of micrometastases in patients with primary breast cancer. *Lancet* 1983; 1271-4.
- Chaiwun B, Saad A, Groshen S. Immunohistochemical detection of occult carcinoma in bone marrow and blood: Critical analysis of efficiency of separation, preparation, and limits of detection in a model system. *Diagn Oncol* 1992; 2: 267-76.
- Solomayer EF, Diel IJ, Krempien B, Meyberg GC, Gollan C, Krainick U, et al. Results of iliac crest biopsies taken from 1465 patients with primary breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 1998; 124: 44-8.
- Brugger W, Buhring HJ, Grunebach F, Vogel W, Kaul S, Müller R, et al. Expression of MUC-1 epitopes on normal bone marrow: Implication for the detection of micrometastatic tumour cells. *J Clin Oncol* 1999; 17: 1535-44.
- Thor A, Viglione MJ, Ohuchi N, Simpsom J, Steis R, Cousar J, et al. Comparison of monoclonal antibodies for the detection of occult breast carcinoma metastases in bone marrow. *Breast Cancer Res Treat* 1998; 11: 133-45.
- Fehm T, Braun S, Muller V, Janni W, Gebauer G, Marth C, et al. A concept for the standardized detection of disseminated tumor cells in bone marrow from patients with primary breast cancer. *Cancer* 2006; 107: 885-92.
- Bauer KD, de la Torre-Bueno J, Diel IJ, Hawes D, Decker WJ, Priddy C, et al. Reliable and sensitive analysis of occult bone marrow metastases using automated cellular imaging. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3552-9.
- Smerage JB, Hayes DE. The measurement and therapeutic implications of circulating tumour cells in breast cancer. *Br J Cancer* 2006; 94: 8-12.
- Fehm T, Sagalowsky A, Clifford E, Beitsch P, Saboorian H, Euhus D, et al. Cytogenetic evidence that circulating epithelial cells in patients with carcinoma are malignant. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 2073-84.
- Coombes RC, Berger U, Mansi J, Redding H, Powles TJ, Neville AM, et al. Prognostic significance of micrometastases in bone marrow in patients with primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1986; 1: 51-3.
- Schlimok G, Funke I, Holzmann B, Göttinger G, Schmidt G, Häuser H, et al. Micrometastatic cancer cells in bone marrow: In vitro detection with anticytokeratin and in vivo labeling with anti-17-1A monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 8672-6.
- Delarney DP, Ormerod MG, Sloane JP. Micrometastases in breast cancer: Long-term follow-up of the first patient cohort. *Eur J Cancer* 1991; 27: 236-9.
- Funke I, Fries S, Rolle M, Heiss MM, Untch M, Bohmert H, et al. Comparative analysis of bone marrow micrometastases in breast and gastric cancer. *Int J Cancer* 1996; 65: 755-61.
- Mansi JL, Gogas H, Bliss JM, Gazet JC, Berger U, Coombes RC. Outcome of primary-breast cancer patients with micrometastasis: A long term follow-up. *Lancet* 1999; 354: 197-202.
- Porro G, Menard S, Tagliabue E, Orefice S, Salvadori B, Squiacciarini P, et al. Monoclonal antibody detection of carcinoma cells in bone marrow biopsy specimens from breast cancer patients. *Cancer* 1988; 61: 2407-11.
- Salvadori B, Squiacciarini P, Rovini D, Orefice S, Andreola S, Rilke F, et al. Use of monoclonal antibody Mbr1 to detect micrometastases in bone marrow specimens of breast cancer patients. *Eur J Cancer* 1990; 26: 865-7.
- Mathieu MC, Friedman S, Bosq J, Caillou B, Spielmann M, Travagli JP, et al. Immunohistochemical staining of bone marrow biopsies for detection of occult metastasis in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1990; 15: 21-6.

30. Wiedswang G, Borgen E, Karesen R, Kvalheim G, Nesland JM, Ovist H, et al. Detection of isolated tumor cells in bone marrow is an independent prognostic factor in breast cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 3469-78.
31. Harbeck N, Untch M, Pache L, Eiermann W. Tumor 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: 566-71.
32. Braun S, Pantel K, Müller P, Janni W, Hepp F, Kantenich CR, et al. Cytokeratin-positive cells in the bone marrow and survival of patients with stage I, II or III breast cancer. *N Engl J Med* 2000; 342: 525-33.
33. Gebauer G, Fehm T, Merkle E, Beck E, Lang N, Jager W. Epithelial cells in bone marrow of breast cancer patients at time of primary surgery: Clinical outcome during long-term follow-up. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3669-74.
34. Osborne M, Rosen P. Detection and management of bone marrow micrometastases in breast cancer. *Oncology* 1994; 8: 25-36.
35. Funke I, Schraut W. Meta-analysis of studies on bone marrow micrometastases: An independent prognostic impact remains to be substantiated. *J Clin Oncol* 1998; 16: 557-66.
36. Braun S, Vogl F, Naume B, Janni W, Osborne M, Coombes RC, et al. A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 353: 793-802.
37. Pierga JY, Bonneton C, Vincent-Salomon A, de Cremoux P, Nos C, Blin N, et al. Clinical significance of immunocytochemical detection of tumor cells using digital microscopy in peripheral blood and bone marrow of breast cancer patient. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 1392-400.
38. Wong GY, Yu QQ, Osborne MP. Bone marrow micrometastasis is a significant predictor of long-term relapse-free survival for breast cancer by a non-proportional hazards model. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 82 (Supl. 1): S99.
39. Stathopoulou A, Gizi A, Perraki M, Apostolaki S, Malamos N, Mavroudis D, et al. Real-time quantification of CK-19 mRNA-positive cells in peripheral blood of breast cancer patients using the light-cycler system. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 5145-51.
40. Slade MJ, Singh A, Smith BM, Tripuraneni G, Hall E, Peckitt C, et al. Persistence of bone marrow micrometastases in patients receiving adjuvant therapy for breast cancer: Results at 4 years. *Int J Cancer* 2005; 114: 94-100.
41. Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Matera J, Miller MC, et al. Circulating tumor cells, disease progression and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 781-91.
42. Wiedswang G, Borgen E, Karesen R, Ovist H, Janbu J, Kvalheim G, et al. Isolated tumour cells in bone marrow three years after diagnosis in disease-free breast cancer predict unfavourable clinical outcome. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 5342-8.
43. Janni W, Rack B, Schindlbeck C, Strobl B, Rjosk D, Braun S, et al. The persistence of isolated tumor cells in bone marrow from patients with breast carcinoma predicts an increase risk for recurrence. *Cancer* 2005; 103: 884-91.
44. Pitini V, Arrigo C. Correspondence: The persistence of isolated tumour cells in bone marrow from patients with breast carcinoma predicts an increase risk for recurrence. *Cancer* 2005; 105: 1332-3.