

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA



**Correlación de Factores Pronósticos Clásicos
con Parámetros Inmunohistoquímicos y
Subtipos Tumorales en mujeres afectadas por
Cáncer de Mama**

M^a Eva Pérez López

Santiago de Compostela, 2012

D. Miguel Caínzos Fernández, Catedrático del Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina de la Universidad de Santiago de Compostela y D. Jesús García Mata, Doctor en Medicina y Cirugía

CERTIFICAN

Que el trabajo de Tesis Doctoral titulado *Correlación de Factores Pronósticos Clásicos con Parámetros Inmunohistoquímicos y Subtipos Tumorales en mujeres afectadas por Cáncer de Mama*, presentado por **Dña. María Eva Pérez López**, ha sido realizado bajo nuestra dirección y reúne los requisitos legales para su presentación y defensa ante el tribunal correspondiente para aspirar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Lo que se hace constar a los efectos oportunos en Santiago de Compostela a veintisiete de Abril de dos mil doce.

Fdo. Dr. Miguel Caínzos Fernández

Fdo. Dr. Jesús García Mata

Fdo. M^a Eva Pérez López

“If it were not for a great variability among individuals, medicine might as well be an science and not an art.”

“Si no fuera por la gran variabilidad entre los individuos, la medicina bien podría ser una ciencia y no un arte.”

Sir William Osler

New England Journal Medicine 1892

A mi abuela

A Manuel

AGRADECIMIENTOS

Al Prof. M. Caínzos por aceptar dirigir este estudio, por su dedicación científica y por demostrarnos, una vez más, que su vocación docente e investigadora trasciende las aulas de la Facultad de Medicina.

Al Dr. J. García Mata por ser el promotor y co-director de este trabajo, por su cercanía, su paciencia, su apoyo y por la amistad que me ha ofrecido a lo largo de estos años.

A la Dra. Ana Bravo, a todas nuestras pacientes y sus familias por su ejemplo de valor, dignidad y coraje.

A las personas sin cuyo esfuerzo esta tesis no hubiera visto la luz: Maite Alves y los doctores: A. Chamorro, M. J. García, J. G. Gómez y C. Penín.

A las doctoras I. Galego y M.J. Montanos, por todo lo que me han enseñado personal y profesionalmente, y por ser el espejo donde quisiera poder mirarme.

A los doctores J. Carrasco, J. Castellanos, M. Jorge y M. Lázaro, quienes durante mi formación me demostraron e inculcaron que un médico debe ser escrupulosamente científico y profundamente humano.

Al servicio de Oncología Médica del CHUO por su ánimo, apoyo y consideración.

A los médicos que han cuidado de mi familia: M. Corzo, V. García Carrasco y J. Masferrer. El respeto y admiración que despertaron en nosotros fueron el germen de mi inclinación por la medicina.

A mis amigas, uno de mis más preciados tesoros, por haberse cruzado en mi vida.

A mi familia por todo el tiempo robado y dedicado a esta tesis.

RESUMEN

El cáncer de mama constituye un heterogéneo grupo de enfermedades que varían en morfología, biología, comportamiento y respuesta al tratamiento.

En varios estudios se ha comunicado que los cánceres de mama pueden clasificarse en subtipos moleculares en función de diferentes perfiles de expresión génica (Luminal A y B, Erb-B2 y Triple Negativo). Estos subgrupos se han relacionado con diferentes evoluciones de la enfermedad, lo que indica la existencia de una base biológica como causa de la heterogeneidad clínica del cáncer de mama. Se ha despertado un enorme interés en estos "retratos moleculares" de las neoplasias mamarias con implicaciones pronósticas y terapéuticas, valorando la posibilidad de reproducir la clasificación en la clínica utilizando un limitado número de marcadores inmunohistoquímicos discriminativos entre las distintas categorías. Algunos estudios sugieren que con la determinación de queratinas basales o de alto peso molecular (CK 5/6), EGFR, c-erb-B2 o Her2-neu, RE y RP y Ki-67 como marcadores más relevantes se podría clasificar el cáncer de mama.

Aunque los factores pronósticos clásicos como el tamaño tumoral, la afectación ganglionar, la edad, el grado y el tipo histológico no han perdido su valor, deben completarse en este momento con los nuevos parámetros biológicos del tumor.

El objetivo primordial de nuestro estudio es averiguar si los subtipos tumorales intrínsecos, clasificados según procedimientos inmunohistoquímicos, presentan valor pronóstico en sí mismos, y si dentro del grupo Triple Negativo se puede diferenciar el subgrupo Basal-Like en cuanto a su comportamiento biológico y clínico.

Se trata de un estudio descriptivo tomando como base 888 pacientes con cáncer de mama del Registro de Tumores del Complejo Hospitalario Universitario de Ourense (CHUO) en el que, tras dividirse mediante técnicas inmunohistoquímicas en subtipos, se han analizado los factores pronósticos de supervivencia.

En los resultados hemos visto que la división en subtipos moleculares condiciona diferente pronóstico evolutivo. El subtipo Triple Negativo es el que evidencia más riesgo de muerte, y dentro de este grupo, los tumores Basal-Like. Junto al tamaño tumoral, la afectación ganglionar y el grado tumoral III constituye un factor pronóstico independiente de supervivencia.

Como conclusiones comprobamos que en nuestra muestra el tamaño tumoral, la afectación ganglionar y el grado III de diferenciación son factores pronósticos independientes de supervivencia. De los factores pronósticos auxiliares pendientes de validación, Ki-67 se demuestra como un factor pronóstico independiente. Dentro de los subtipos tumorales intrínsecos, el subtipo Triple Negativo constituye un factor pronóstico independiente de muerte. El fenotipo Basal-Like se asocia a mayor mortalidad en pacientes con cáncer de mama sin afectación ganglionar. En el grupo de pacientes sin afectación ganglionar pertenecientes al subtipo luminal, pertenecer al subtipo Luminal B les confiere peor pronóstico.

THESIS ABSTRACT

Breast cancer constitutes a heterogeneous group of diseases which vary in morphology, biology, behaviour and treatment response.

It has been communicated in many studies that breast cancer can be classified in molecular subtypes according to different gene expression profiles (Luminal A and B, Erb-B2 and Triple Negative). These sub-groups have been related to different evolutions of the disease, which indicates the existence of a biological base as the cause of the clinical heterogeneity of breast cancer. These “molecular portraits” of the mammary neoplasms with prognosis and therapeutic implications have aroused great interest, evaluating the possibility of reproducing the classification in the clinic, using a limited number of immunohistochemical discriminative markers among the different categories. Some studies suggest that breast cancer could be classified with the determination of basal keratines or of a high molecular weight (CK 5/6), EFGR, c-erb-B2 or Her2-neu, RE and RP and Ki-67 as the most relevant markers.

Even though the classical prognosis factors, such as tumor size, ganglionar affectation, age, histological grade and type have not lost their value, must be completed now with the new biological parameters of the tumor.

The main objective of our study is to find out if the tumor intrinsic subtypes, classified according to immuohistochemical procedures, have any prognosis value themselves, and if the Basal-Like subgroup can be differenced within the Triple Negative group, taking in account its biological and clinical behaviour.

It is a descriptive study taking 888 patients with breast cancer from the CHUO (Hospital Complex of Ourense in Spanish) Tumor Registry. After dividing the patients by immunohistochemistry in subtypes, the survival prognosis factors have been analyzed.

The results show that the division in molecular subtypes conditions a different evolutionary prognosis. The Triple Negative subtype is the one which shows a higher death risk, and, within this group, the Basal-Like tumors. Along with the tumoral size, the nodal affectation and the tumor grade III, it constitutes an independent survival prognosis factor.

As a conclusion, we saw that in our sample, the tumor size, the ganglionic affectation and the grade III of differentiation are independent survival prognosis factors. Ki-67 is seen as an independent prognosis factor among the auxiliary prognosis factors pending validation.

Within the intrinsic tumor subtypes, the Triple Negative subtype is an independent prognosis factor of death. The Basal-Like phenotype is associated with a higher mortality in patients with breast cancer without nodal affectation. In the group of patients without nodal affectation that belong to the luminal subtype, by belonging to the subtype Luminal B they are conferred to a worse prognosis.

ÍNDICE

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. EPIDEMIOLOGÍA	6
1.2. FACTORES DE RIESGO	10
1.3. FACTORES PRONÓSTICOS	14
1.3.1. FACTORES PRONÓSTICOS CLÁSICOS	17
1.3.1.1. EDAD	17
1.3.1.2. ESTADIO TUMORAL	18
1.3.1.2.1. Sistema TNM (TNM)	20
1.3.1.2.2. Tamaño Tumoral (T)	28
1.3.1.2.3. Metástasis Ganglionares (N)	30
1.3.1.3. TIPO TUMORAL	33
1.3.1.4. GRADO TUMORAL	35
1.3.1.5. ÍNDICE PRONÓSTICO DE NOTTINGHAM	37
1.3.1.6. INVASIÓN VASCULAR LINFÁTICA	38
1.3.2. FACTORES PRONÓSTICOS AUXILIARES PENDIENTES DE VALIDACIÓN	41
1.3.2.1. Ki-67	42
1.3.2.2. p53	48
1.3.2.3. Catepsina D	50
1.3.2.4. Ciclina E	51
1.3.2.5. Activador de Plasminógeno Urokinasa (uPA)	52
1.3.2.6. Células tumorales circulantes de CM	53
1.3.2.7. Micrometástasis en médula ósea	54
1.4. FACTORES PRONÓSTICOS CON CAPACIDAD PREDICTIVA	55
1.4.1. RECEPTORES HORMONALES	56
1.4.2. EXPRESIÓN DEL ONCOGEN c-ERB-B2 (proteína HER-2neu o receptor HER2)	61
1.5. FACTORES PRONÓSTICOS MOLECULARES	65
1.5.1. SUBTIPOS MOLECULARES INTRÍNSECOS	67
1.5.1.1. Subtipo Luminal (A y B)	73
1.5.1.2. Subtipo ErbB2	77
1.5.1.3. Subtipo Triple Negativo (TN) y/o Basal (o Basal-like)(BL)	79
1.5.2. OTROS PERFILES DE EXPRESIÓN GÉNICA	85
1.5.3. APLICACIONES ACTUALES DE LOS PERFILES DE EXPRESIÓN GÉNICA	90
2. HIPÓTESIS DE TRABAJO	93
3. OBJETIVOS	95
4. MATERIAL Y MÉTODO	98
4.1. TIPO DE ESTUDIO	98
4.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO	98
4.2.1. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA POBLACIÓN	98
4.2.2. EXCLUSIONES Y PÉRDIDAS EN EL SEGUIMIENTO	99
4.2.3. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA	99
4.3. VARIABLES A ESTUDIO	100
4.4. TÉCNICAS DE INMUNOHISTOQUÍMICA Y SUBTIPOS TUMORALES	101
4.5. SEGUIMIENTO DE LA MUESTRA	104
4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	105
4.7. ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES	106
5. RESULTADOS	107
5.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	108
5.1.1. DISTRIBUCIÓN POR GRUPOS DE EDAD	109
5.1.2. LATERALIDAD	110
5.1.3. EXTENSIÓN DE LA ENFERMEDAD PREVIA AL TRATAMIENTO	111
5.1.4. HISTOLOGÍA AGRUPADA	112
5.1.5. ESTADIO-TAMAÑO TUMORAL	113
5.1.6. ESTADIO-AFECCIÓN GANGLIONAR	114
5.1.7. GRADO DE DIFERENCIACIÓN	115
5.1.8. EXPRESIÓN DE RECEPTOR DE ESTRÓGENO	116
5.1.9. EXPRESIÓN DE RECEPTOR DE PROGESTERONA	117
5.1.10. EXPRESIÓN DE RECEPTOR DE Her-2	118
5.1.11. EXPRESIÓN DE Ki-67	119
5.1.12. EXPRESIÓN DE MUTACIÓN DE P53	119
5.1.13. SUBTIPOS AGRUPADOS	120
5.1.14. TRIPLE NEGATIVO	121
5.1.15. TRIPLE NEGATIVOS (BASAL-LIKE/NO)	122
5.1.16. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO DE LA MAMA	123
5.1.17. DISECCIÓN AXILAR	124
5.1.18. RADIOTERAPIA	125

5.1.19. QUIMIOTERAPIA	125
5.1.20. TIPO DE TRATAMIENTO DE QUIMIOTERAPIA	126
5.1.21. INTENSIDAD DE DOSIS DE QUIMIOTERAPIA	127
5.1.22. TRATAMIENTO HORMONAL.....	128
5.1.23. ESTATUS.....	129
5.1.24. ESTADO AL CIERRE DEL ANÁLISIS	130
5.1.25. RECAÍDA.....	132
5.1.26. LUGAR DE RECAÍDA.....	133
5.2. ANÁLISIS DESCRIPTIVO POR SUBTIPOS TUMORALES	135
5.2.1. CARACTERÍSTICAS SEGÚN LOS DIFERENTES SUBTIPOS TUMORALES	135
5.2.2. DESCRIPTIVO DE COMBINACIÓN DE FACTORES PRONÓSTICOS CLÁSICOS Y AUXILIARES CON SUBTIPOS TUMORALES ..	142
5.2.3. DESCRIPTIVO DE LA COMBINACIÓN DE TRATAMIENTOS RECIBIDOS Y SUBTIPOS TUMORALES	147
5.2.4. DESCRIPTIVO DE RECAÍDA POR SUBTIPOS SEGÚN AFECTACIÓN GANGLIONAR	153
5.2.5. DESCRIPTIVO DE MORTALIDAD POR SUBTIPOS TUMORALES SEGÚN LA AFECTACIÓN GANGLIONAR.....	154
5.2.6. DESCRIPTIVO DE RECAÍDA Y MORTALIDAD EN LUMINAL B SIN AFECTACIÓN GANGLIONAR:	156
5.2.7. DESCRIPTIVO DE RECAÍDA Y MORTALIDAD EN TUMORES TRIPLE NEGATIVO.....	163
5.2.7.1. DESCRIPTIVO DE RECAÍDA Y MUERTE EN TUMORES TRIPLE NEGATIVO SIN AFECTACIÓN GANGLIONAR.....	166
5.2.7.2. DESCRIPTIVO DE RECAÍDA Y MUERTE EN TUMORES TRIPLE NEGATIVO CON AFECTACIÓN GANGLIONAR	169
5.3. IMPACTO DE LOS FACTORES PRONÓSTICOS CLÁSICOS SOBRE LA SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CM.....	172
5.3.1. ANÁLISIS UNIVARIANTE DE LOS FACTORES PRONÓSTICOS CLÁSICOS.....	172
5.3.2. ANÁLISIS MULTIVARIANTE GLOBAL DE LOS FACTORES PRONÓSTICOS CLÁSICOS	185
5.4. IMPACTO DE LOS SUBTIPOS TUMORALES EN LA SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CÁNCER DE MAMA.....	188
5.5.IMPACTO DE LA COMBINACIÓN DE A. GANGLIONAR Y SUBTIPOS EN LA SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CM189	
5.6. IMPACTO DE LA COMBINACIÓN DE F.P. CLÁSICOS Y SUBTIPOS EN LA SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CM	190
6. DISCUSIÓN	195
6.1. FACTORES PRONÓSTICOS CLÁSICOS.....	198
6.2. SUBTIPOS TUMORALES COMO FACTOR PRONÓSTICO Y HALLAZGOS CLÍNICOS PATOLÓGICOS ASOCIADOS	204
7. CONCLUSIONES.....	213
8. BIBLIOGRAFÍA	216
9. ANEXOS	238
9.1. DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE GALICIA.....	239
9.2. INDICE DE FIGURAS	240
9.3. INDICE DE TABLAS	242

INDICE DE ABREVIATURAS

AJCC: American Joint Committee on Cancer

ASCO: Sociedad Americana de Oncología Clínica

ATM: Gen Mutado de la Ataxia-Telangiectasia

BC: Breast Cancer

BL: Subtipo Tumoral Basal-Like

BRCA 1 Y 2: Genes cuya mutación predispone al desarrollo de cáncer de mama

BSGC: Biopsia Selectiva de Ganglio Centinela

Ca 15.3: Antígeno Carbohidrato Ca 15.3 utilizado como marcador tumoral de cáncer de mama

CK 5/6: Citoqueratinas basales 5 y 6

CK 8/18: Citoqueratinas lumbales 8 y 18

CK 17/14: Citoqueratinas epiteliales 17 y 14

CAF: Ciclofosfamida-Adriamicina-5 Fluouracilo

CEA: Antígeno Carcino-Embrionario

CEIC: Comité de Investigación Clínica de Galicia

c-erbB2: Oncogen erbB2

CHEK2: Gen supresor de tumores cuya mutación parece predisponer a cáncer de mama

CHUO: Complejo Hospitalario Universitario de Ourense

CISH: Hibridación Cromogénica in situ

c-kit: Protooncogen que regula el ciclo celular

cm: centímetros

CM: Cáncer de Mama

CMF: Ciclofosfamida-Metotrexate-5 Fluorouracilo

c-myc: Oncogen regulador del ciclo celular

CTC: Células Tumorales Circulantes

DNA/ADN: Ácido Desoxirribonucleico

EBCTCG: Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group

EGFR: Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico

ErbB2: Subtipo Tumoral que expresa Her2-neu o c-ErbB2 y no expresa receptores hormonales

FDA: Food and Drug Administration

FISH: Hibridación Fluorescente in situ

fmol/mg: Fentomoles por milígramo

G1: Fase celular comprendida entre la división celular y la duplicación del DNA

G2: Fase celular comprendida entre la duplicación del DNA y una nueva fase de división celular

GATA4: Gen regulador de la embriogénesis y diferenciación celular

GEICAM: Grupo Español de Investigación en Cáncer de Mama

GGI: Índice/Modelo del Grado Genómico

GRB7: Oncogen regulador del ciclo celular

H & E: Hematosilina y Eosina

Her2: Receptor Her2 de la membrana celular

Her2-neu: Proteína celular codificada por el gen c-ErbB2

Her2-neu-ECD: Dominio ExtraCelular de la proteína Her2-neu

HOXB13/1L17BR: Modelo Genético Pronóstico de cáncer de mama

IGF-1R: Receptor Tipo 1 del factor de crecimiento derivado de la Insulina

IHQ: Inmunohistoquímica

KD: KiloDaltons

Ki-67: Antígeno relacionado con la Proliferación Celular

LA: Subtipo Tumoral Luminal A que expresa receptores hormonales y ausencia de ki-67

LB: Subtipo Tumoral Luminal B que expresa receptores hormonales, Ki-67 y/o Her2-neu

LHRH: Hormona Liberadora de Gonadotrofinas

LIV1: Oncogen regulador del ciclo celular que induce apoptosis

mm: milímetros

M: Metástasis

MIB-1: Anticuerpo frente al Antígeno Ki-67

N: Afectación Ganglionar

NPI: Índice Pronóstico de Nottingham

no-BL: no Basal-Like o Normal-Like

p53: Proteína ubicua codificada por TP53 relacionada con el control del ciclo celular

p63: Proteína codificada por TP63 relacionada con el control del ciclo celular

p95: Forma truncada de la proteína Her2-neu que confiere resistencia a Trastuzumab

PARP: Enzima nuclear Poli (ADP-Ribosa) Polimerasa

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

PEPI: Índice Pronóstico Preoperatorio

PTEN: Gen Supresor de Tumores

QT: Quimioterapia

RB: Gen supresor de tumores

RB1: Proteína codificada por el gen RB

RE: Receptor de Estrógeno

RP: Receptor de Progesterona

RT: Radioterapia

RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa

S: Etapa celular de duplicación del DNA

SEAP: Sociedad Española de Anatomía Patológica

SNC: Sistema Nervioso Central

STK11: Gen supresor de tumores

TFF1/pS2: Gen supresor de tumores

TP53: Oncogen supresor de tumores que codifica la proteína p53

TN: Subtipo Tumoral Triple Negativo, sin expresión de receptores hormonales ni de Her2-neu

UICC: Union for International Cancer Control

uPA/ PAI-1: Inhibidor 1 del Factor Activador del Plasminógeno

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama (CM) es, en España, la primera causa de muerte por cáncer en el sexo femenino. Abarca un amplio espectro de neoplasias con marcada heterogeneidad en cuanto a su etiología, agresividad biológica, capacidad de diseminación a distancia y respuesta a diferentes maniobras terapéuticas, lo que determina un pronóstico variable.

El diagnóstico en una etapa temprana de la enfermedad y el abordaje multidisciplinar de la misma son las piedras angulares de la supervivencia.

Debido a su frecuencia, a la cantidad de recursos que consume y a la alarma social que genera, constituye un problema de salud prioritario para las Administraciones Sanitarias. De ahí las campañas de Screening para intentar un diagnóstico precoz ⁽¹⁾.

La clasificación histopatológica actual sufre progresivamente limitaciones en su relevancia clínica, al no reflejar la variabilidad de las neoplasias en su comportamiento biológico, ni tener un buen valor predictivo de la respuesta o resistencia a los distintos tratamientos. El hecho de que alrededor de un 30% de los tumores con buen pronóstico a los que no se administra tratamiento quimioterápico lo precisarían, unido a que aproximadamente el 30% de los pautados actualmente podrían resultar superfluos, hace que deba considerarse que sería de gran valor poder identificar otros factores pronósticos que, añadidos a los clásicos, nos permitiesen determinar de forma

más aproximada el riesgo de recaída de cada paciente y adecuar nuestra intervención terapéutica ⁽²⁾.

En la actualidad una de las herramientas más utilizadas para decidir el tratamiento adyuvante es el programa “Adjuvant online!” ⁽³⁾. Nos permite calcular el riesgo de recaída y muerte según tamaño y grado tumoral, afectación ganglionar, expresión de receptor estrogénico (RE), edad y comorbilidades de la paciente. Es posible además calcular el beneficio del arma terapéutica, hormonal o quimioterápica. Sin embargo, tiene importantes limitaciones pues no valora otros parámetros importantes como la expresión de Her2-neu/c-erbB2 u otras variables de proliferación celular (Figura 1).

Adjuvant! Online
Decision making tools for health care professionals

Adjuvant! for Breast Cancer (Version 8.0)

Patient Information

Age:

Comorbidity:

ER Status:

Tumor Grade:

Tumor Size:

Positive Nodes:

Calculate For:

10 Year Risk:

Adjuvant Therapy Effectiveness

Horm:


Chemo:

Hormonal Therapy:

Chemotherapy:


Combined Therapy:

No additional therapy:




83.1 alive and without cancer in 10 years.
14.9 relapse.
2.0 die of other causes.

With hormonal therapy: Benefit = 5.6 without relapse.



With chemotherapy: Benefit = 5.2 without relapse.



With combined therapy: Benefit = 8.9 without relapse.




Figura 1. Fuente: Adjuvant! Online (www.adjuvantonline.com) (3)

En este sentido los últimos estudios de investigación adjudican un importante valor pronóstico a la clasificación molecular de las neoplasias. Las dividen en diferentes subtipos tumorales según su perfil genético y/o inmunohistoquímico (IHQ), lo que determinaría también una variabilidad biológica y perfil evolutivo diferentes ⁽⁴⁾.

La capacidad de establecer categorías de riesgo según el perfil inmunohistoquímico sería un buen punto de partida que, añadido a los factores pronósticos clásicos, nos ayudaría a individualizar y precisar más el tratamiento adyuvante o la ausencia del mismo ⁽⁵⁾.

1.1. EPIDEMIOLOGÍA

El cáncer de mama es el tumor maligno más prevalente entre la población femenina española. Representa alrededor del 25% de todos los tumores incidentes en este grupo de población, si se exceptúa el cáncer de piel no melanoma ⁽⁶⁾. Esta incidencia en nuestro país fue de 94 por 100.000 mujeres en el año 2006, según los datos obtenidos por los distintos registros españoles de cáncer de base poblacional ⁽⁷⁾. A través de ellos se estimó una incidencia ajustada de 93,6 casos/ 100.000 habitantes para 2009. Es decir, la posibilidad actual de que una mujer española desarrolle un cáncer de mama antes de cumplir 75 años se aproxima a un 5% (en Europa un 8%)⁽⁸⁾. Esto significa que una de cada 20 mujeres desarrollará un cáncer de mama antes de esa edad.

Se ha observado un descenso de 1.8% anual en la mortalidad global por cáncer de mama ⁽⁷⁾; sin embargo hay una variación de su incidencia en relación a la edad. Ha disminuido en las mujeres mayores de 45 años y ha aumentado en las mujeres más jóvenes ⁽⁹⁻¹⁰⁾

Esta neoplasia supone también la primera causa de muerte por cáncer en mujeres, con una tasa de mortalidad de 28/ 100.000, lo que representa el 18,4% del total de muertes por cáncer femenino ⁽¹¹⁻¹²⁾ (Figura 2).

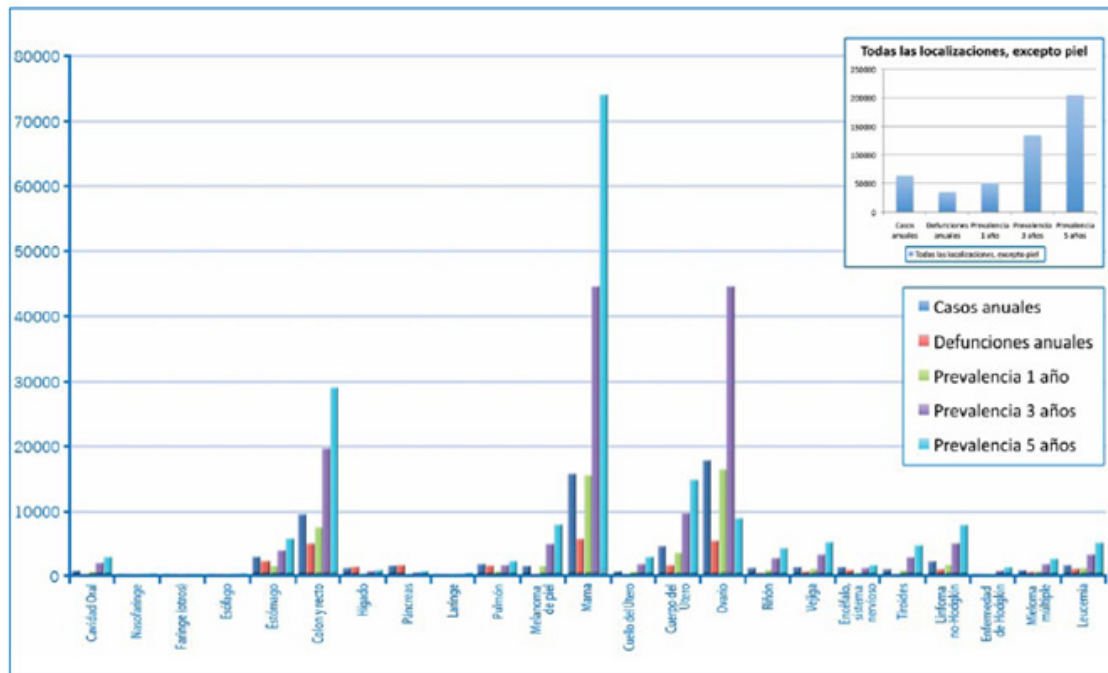


Figura 2. El tumor más mortal en mujeres continúa siendo el de mama seguido del colorrectal (12)

Según los datos disponibles del estudio EURO CARE-4 ⁽¹³⁻¹⁴⁾ se ha observado un aumento de supervivencia ajustada, hasta del 80% a 5 años en Europa y del 80.80% en España ⁽¹²⁾ (Figura 3).

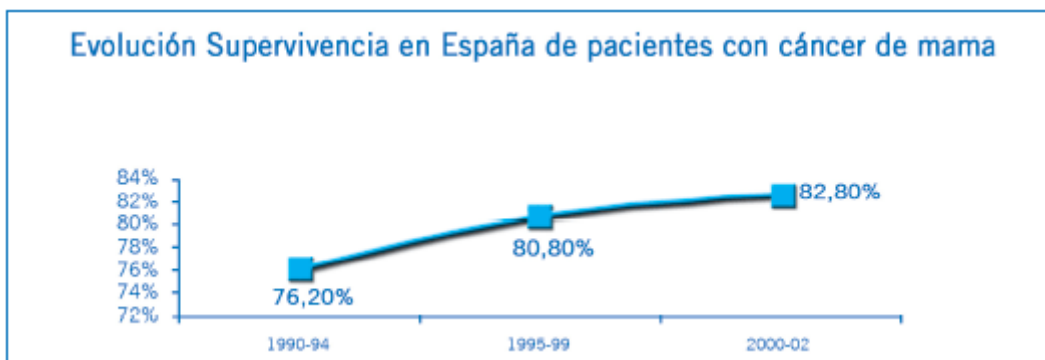


Figura 3. Fuente SEOM (Sociedad Española de Oncología Médica) (www.seom.org) (12)

La incidencia global prevista de cáncer en mujeres españolas en el año 2012 es de 103.417 ^(12, 15). En este sexo, el tumor más incidente es el de mama, seguido del colorrectal y los tumores ginecológicos.

En la Comunidad Autónoma Gallega, las neoplasias son la segunda causa de muerte tras las enfermedades cardio-circulatorias. En el segmento etario de los 35 a los 64 años, sin embargo, las enfermedades oncológicas constituyen la principal causa de mortalidad. La tasa de mortalidad por cáncer estandarizada de Galicia en 1998 fue de 210 casos por 100.000 habitantes. En lo que respecta al cáncer de mama ésta fue de 14 por 100.000 habitantes ^(7, 16) (Figura 4).

Desde 1990 se ha venido observando un incremento en la supervivencia del cáncer de mama debido a la instauración de los programas de cribado poblacional, del que hoy en día se benefician en nuestra Comunidad Autónoma las mujeres entre 50 y 65 años, como recomiendan la mayoría de las organizaciones sanitarias internacionales. A esto se añade además, la consecución de una importante mejora en el abordaje terapéutico multidisciplinar de la enfermedad ⁽¹⁷⁻¹⁸⁾.

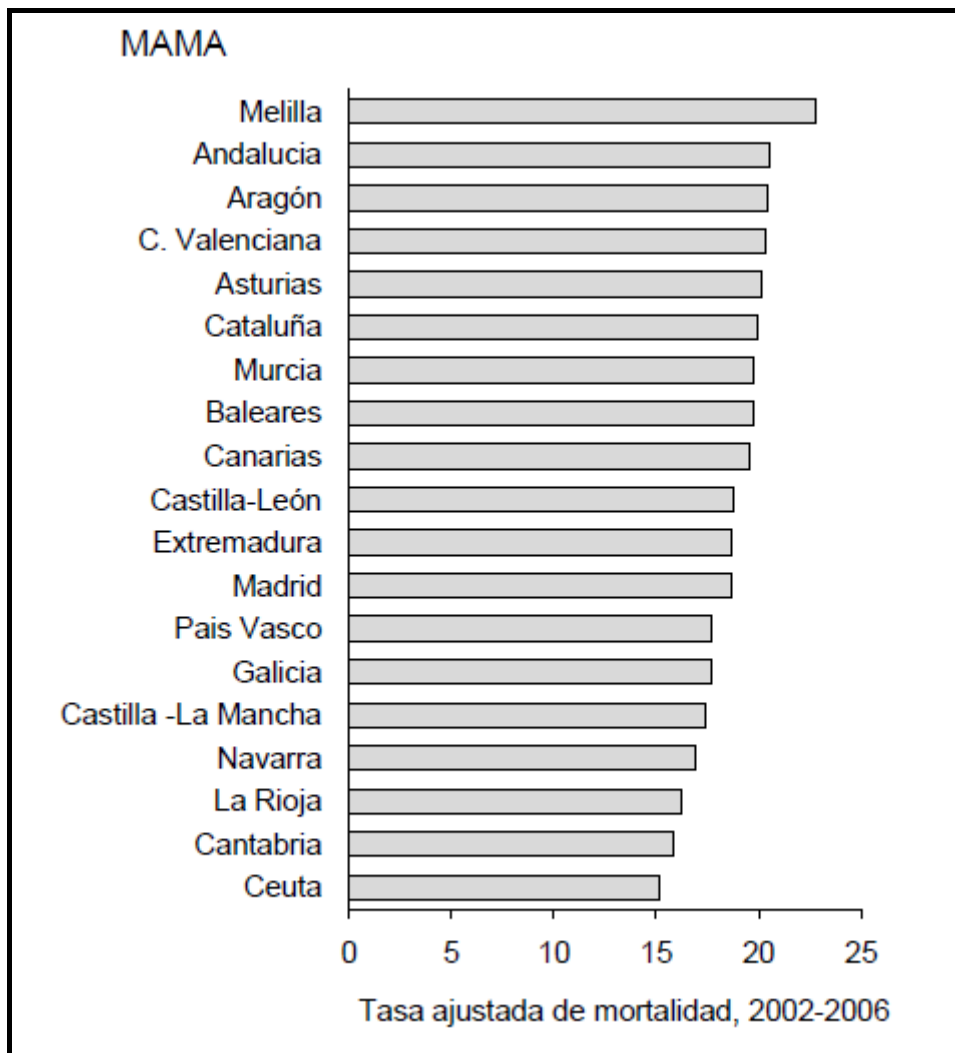


Figura 4. Tasa ajustada de mortalidad por CM por Comunidad Autónoma. (7)

1.2. FACTORES DE RIESGO

Se han señalado diferentes variables asociadas a un aumento del riesgo de padecer esta neoplasia. Sin embargo el 66% de los tumores diagnosticados no se asocia a ninguna de ellas. Distinguimos:

1.2.1. Historia personal de cáncer de mama, elevando el riesgo de carcinoma invasor si se ha padecido un tumor in situ o un carcinoma invasor previos ⁽¹⁹⁻²⁰⁾. La existencia de necrosis tumoral incluso parece incrementar más el riesgo de recaída ⁽²¹⁾ y, según Silverstein, la recaída local pudiera relacionarse con el grado histológico, el tamaño tumoral y la afectación de los márgenes, lo que se conoce como “índice de Van Nuys”⁽²²⁾. Actualmente se añade la edad a estos parámetros denominándose “índice de Van Nuys modificado”⁽²³⁾. La realización de técnicas quirúrgicas más conservadoras (de elección hoy en día) parece también aumentar, aunque muy discretamente, el riesgo de recidiva local ⁽²⁴⁻²⁵⁾.

1.2.2. Susceptibilidad genética. Se ha estimado que un 5-10% casos de cáncer de mama son debidos a mutaciones en genes de alta penetrancia, de las cuales el 20-25% ocurren en los genes BRCA-1 y 2 ⁽²⁶⁾. El riesgo de desarrollar un cáncer de mama a lo largo de la vida en portadoras de mutación en BRCA-1 es superior al 60% y mayor del 50% en portadoras de la mutación en BRCA-2 ⁽²⁷⁾. Otros genes de alta penetrancia responsables son: p53, ATM, PTEN, STK11 ⁽²⁸⁾. Existen además alteraciones en genes de menor penetrancia que podrían también expresarse según en qué huésped y

circunstancia (modelo poligénico) ⁽²⁹⁾, como, por ejemplo, el últimamente identificado gen CHEK2 ⁽³⁰⁾.

1.2.3. Factores hormonales: La exposición a elevadas concentraciones de estrógenos endógenos aumenta el riesgo de padecer cáncer de mama. Por tanto, una menarquia temprana y una menopausia tardía podrían incrementar el riesgo ⁽³¹⁾. Por otra parte, la irregularidad en los ciclos menstruales pudiera ser un factor protector como consecuencia de la alta incidencia de ciclos anovulatorios ⁽³²⁾.

El embarazo parece tener un doble efecto a corto y largo plazo, ya que se asocia a un incremento del riesgo inicial debido al aumento de hormonas circulantes; pero constituye un factor protector a largo plazo como consecuencia de la maduración del tejido mamario, que se traduce en una menor tasa de proliferación del mismo ⁽³³⁾. Este efecto dual explicaría la cuestión de por qué las mujeres nulíparas tienen menor incidencia de cáncer de mama que las mujeres cuyo primer parto es tardío ^(31, 33).

Con respecto al uso de anticonceptivos orales, parece incrementarse el riesgo durante la ingesta de los mismos, sobre todo si su uso dura 10 años o más. Este incremento parece mayor en los tumores con receptores de estrógeno negativos ⁽³⁴⁾, en especial en las mujeres entre 25 y 64 años con neoplasias triple negativas que habían iniciado la toma de los mismos antes de los 18 años ⁽³⁵⁾.

Se ha demostrado en estudios observacionales que la terapia hormonal sustitutiva con estrógenos eleva el riesgo de cáncer de mama. Este efecto parece

desaparecer al abandonar su uso y el riesgo es mayor en usuarias de estrógenos combinados con progesterona ⁽³⁶⁻³⁷⁾.

1.2.4. Dieta: Aunque no hay datos concluyentes sobre la asociación de una dieta rica en grasas y el desarrollo de cáncer de mama ⁽³⁸⁾, parece que el aceite de oliva pudiera tener cierto papel protector, observado en estudios epidemiológicos realizados en países Mediterráneos ⁽³⁹⁻⁴¹⁾.

Sí se ha visto sin embargo, una elevada frecuencia de cáncer de mama en relación al consumo de alcohol ⁽⁴²⁾. Su principal metabolito, el acetaldehído, posee un papel cancerígeno “per se” y es capaz de incrementar los niveles de estrógenos circulantes. En este proceso la probable magnitud del daño depende de la cantidad de alcohol consumido ⁽⁴³⁾. En un metanálisis de 38 estudios epidemiológicos se estimó el riesgo de cáncer de mama en relación proporcional a la ingesta etílica con respecto a las mujeres abstemias ⁽⁴⁴⁾.

La soja y otros alimentos que contienen fitoestrógenos son compuestos con débil actividad estrogénica que, podrían interferir igualmente con la acción y el metabolismo de los estrógenos endógenos. Estudios experimentales y epidemiológicos existentes arrojan, sin embargo, resultados contradictorios con respecto a este último punto ⁽⁴⁵⁻⁴⁷⁾.

1.2.5. Densidad mamográfica. El aumento de la densidad mamográfica (definida como la proporción de área mamaria ocupada en la mamografía por tejido

radiológicamente denso) va unido a un incremento en el riesgo de cáncer de mama, posiblemente porque se dificulta el diagnóstico y cribado de las pacientes debido a la interpretación y visibilidad de las posibles lesiones ^(8, 31, 48-49).

1.2.6. Radiación ionizante. La exposición a radiaciones ionizantes se ha relacionado con un aumento del riesgo de padecer cáncer de mama hasta los 40-45 años. El período de mayor vulnerabilidad parece encontrarse en la época prepuberal, entre los 14 y 20 años ⁽⁵⁰⁾. La proporción de presentación es mayor a menor edad en el momento de la exposición, existiendo una latencia para el desarrollo del cáncer de mama, y una relación con la dosis de radiación recibida ⁽⁵¹⁾. Sin embargo, la asociación de irradiación a dosis reducidas (como la recibida en las pruebas de imagen diagnósticas) con la aparición de un cáncer de mama es mucho más controvertida ⁽⁵²⁻⁵³⁾.

1.2.7. Ejercicio Físico. Algunas hipótesis planteadas para explicar la relación entre el ejercicio físico moderado y la disminución del riesgo de padecer cáncer de mama son: la potenciación de la inmunidad, el cambio en las cantidades de hormonas sexuales (estrógenos y andrógenos) medidas en sangre y las variaciones en el volumen de grasa corporal ⁽⁵⁴⁻⁵⁵⁾.

1.3. FACTORES PRONÓSTICOS

Hasta aquí hemos descrito una serie de elementos asociados a un incremento del riesgo de padecer un cáncer de mama, lo que no debe confundirnos con nuestro objetivo: describir los factores pronósticos de este tumor.

El pronóstico científico se inicia con la Medicina Hipocrática. Los médicos hipocráticos denominaban *progignoskein* al conocimiento del pasado, presente y futuro del enfermo; y el éxito del médico estaba estrechamente ligado a la exactitud en el establecimiento del pronóstico.

Actualmente definimos como “factor pronóstico” a una variable de tipo clínico, histológico o biológico, asociada al paciente y/o su enfermedad, y que se correlaciona con el desenlace de ésta en ausencia de terapia. Es decir, se correlaciona con la historia natural de la enfermedad, refleja la biología del tumor y predice la supervivencia sin tratamiento ⁽⁵⁶⁾.

Por el contrario, un “factor predictivo de respuesta” se define como una variable clínica, histológica, biológica o más frecuentemente molecular que predice la respuesta a un determinado abordaje terapéutico. Proporciona información acerca de la probabilidad de respuesta a una modalidad terapéutica determinada. Existen factores predictivos que podrían ser considerados parcialmente como pronósticos,

puesto que, su expresión también determina en alguna medida la agresividad biológica del tumor⁽⁵⁷⁾.

Un factor pronóstico útil debiera ser independiente y tener valor predictivo significativo, ser validado por ensayos clínicos rigurosos, ser reproducible y ampliamente accesible con posibilidad de realizar controles de calidad, de rápida y sencilla interpretación clínica y, finalmente, debiera tener implicaciones terapéuticas⁽⁵⁸⁾.

Su evaluación y utilización correctas tendría impacto significativo en el proceso de decisión terapéutica, el cual debería incluir los siguientes pasos:

1. Estimación básica del riesgo de recurrencia (intervalo libre de enfermedad) y muerte (supervivencia global) en el diagnóstico, en base sólo a parámetros de valor pronóstico demostrado.

2. Estimación de la eficacia de las diferentes modalidades de tratamiento (disminución del riesgo de recurrencia y mejora de la supervivencia), para una paciente concreta con unos factores y un riesgo determinados.

3. Consideración de otros factores, como la relación coste/ beneficio, entendida tanto en términos económicos (a igual eficacia) como en efectos secundarios a corto y largo plazo, deseos de la paciente (en caso de diversas alternativas equiparables disponibles) y seguimiento.

Factores pronóstico que identifican pacientes con mala evolución presentan menor dificultad en su hallazgo que aquellos que servirían para reconocer enfermas con excelente curso vital. La identificación de mujeres que presentarán un ínfimo riesgo de recaída requiere gran número de casos y seguimientos muy largos ⁽⁵⁹⁾.

Una serie de parámetros han sido valorados como indicadores pronósticos de cáncer de mama desde los años 80 ⁽⁶⁰⁻⁶⁴⁾. En la década de los 90 continuaba el creciente interés sobre este particular en la literatura ^(58, 65-68). Hasta hoy se han mantenido periódicamente reuniones de comités de expertos que han revisado la evidencia disponible y actualizada para ayudar a definir qué variables deben ser aplicadas como pronósticas o predictivas ^(2, 69).

Podemos clasificar a los factores pronósticos clínicos en tres grupos:

- a. Dependientes de la paciente (como la edad o la raza),
- b. Dependientes de las características anatómicas del tumor (como tamaño, afectación ganglionar o invasión vascular),
- c. Dependientes de la biología del tumor o de los “biomarcadores” (como el grado histológico, la expresión de los receptores de estrógeno y progesterona, y del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico (Her-2)).

En nuestro estudio abordaremos los factores pronósticos clásicos y auxiliares, los factores predictivos de respuesta con implicación pronóstica y los factores pronósticos moleculares.

1.3.1. FACTORES PRONÓSTICOS CLÁSICOS

Parece haber un claro acuerdo en que el tamaño del tumor, la afectación ganglionar y el grado histológico permiten diferenciar categorías de riesgo⁽²⁾. Algunos más se han asociado a riesgo de recaída y/o muerte:

1.3.1.1. EDAD

De las características de la paciente que se barajan como pronósticamente significativas, la edad, hasta la fecha, era la única que había sido validada y se incluía entre los factores que determinaban grupos de riesgo^(2, 59).

Casi todos los estudios sugieren que las mujeres jóvenes con cáncer de mama (particularmente las menores de 35 años)⁽⁷⁰⁻⁷¹⁾ presentan una mayor asociación con otros factores pronósticos negativos, condicionando resultados pobres. Incluso en mujeres entre 39 y 41 años sometidas a screening mamográfico no se observó disminución de mortalidad por cáncer a los 10 años con respecto a las que no participaban en él⁽⁷²⁾.

Se ha evidenciado en pacientes jóvenes con tumores sin expresión de receptores hormonales ni de Her2-neu/c-erbB2 (aunque el tamaño tumoral sea subcentimétrico) un mayor riesgo de recurrencia, demostrándose estadísticamente la independencia de la edad como factor pronóstico⁽⁷³⁾.

Clásicamente, en el análisis multivariante, se ha confirmado la edad como indicador pronóstico desfavorable independiente⁽⁷⁴⁻⁷⁶⁾, aunque en alguna moderna investigación que incluye clasificaciones con firmas genéticas pierde esta capacidad independiente⁽⁷⁷⁾. Igualmente, en otro reciente estudio con 155 pacientes jóvenes en las que, tras ajustar por grado y estadio tumoral, la edad perdía su potencia y autonomía pronóstica⁽⁷⁸⁾.

Finalmente, a pesar de que publicaciones actuales presentan resultados contradictorios⁽⁷⁹⁻⁸⁰⁾, en la práctica clínica la edad se sigue empleando como variable pronóstica, unida a otras, para evaluar el riesgo de recaída y la necesidad o no de un tratamiento adyuvante⁽²⁾.

En el caso de historia familiar de cáncer de mama asociado a mutaciones en la línea germinal de BRCA-1 y 2, sí se ha descrito su aparición a edades más jóvenes que en la población general y con expresión de variables pronósticas desfavorables⁽⁸¹⁻⁸²⁾.

1.3.1.2. ESTADIO TUMORAL

El estadio es esencial en la evaluación de la neoplasia puesto que es un importante factor pronóstico de la supervivencia y; su valoración es crucial en el tratamiento de las pacientes⁽⁸³⁻⁸⁴⁾.

La estadificación correcta está basada en una combinación de los exámenes clínico y radiológico. El examen clínico debería incluir la evaluación del tamaño,

movilidad y cambios visibles en la piel por el tumor primario, valoración del tamaño y movilidad de los ganglios linfáticos regionales y cualquier evidencia de metástasis a distancia. La estadificación anatómo-patológica (AP) requiere un examen exhaustivo de la pieza (desde el tumor primario hasta los ganglios axilares) para confirmar la presencia del tumor y el tamaño de la lesión ⁽⁸⁵⁾.

El estadio clínico y patológico no siempre se correlacionan; por ejemplo, los cambios inflamatorios en la piel de la mama no reflejan necesariamente invasión linfática dérmica (carcinoma inflamatorio), y la estimación clínica de la presencia o ausencia de afectación ganglionar es incorrecta en alrededor de un tercio de los casos ⁽⁸⁶⁾.

El Sistema de Clasificación TNM de los tumores malignos fue desarrollado entre los años 1943 y 1952 por Pierre Denoix ⁽⁸⁷⁾. La metodología utilizada para clasificar el cáncer de mama basada en una evaluación meticulosa del tumor primario (T), los ganglios linfáticos regionales (N), y las metástasis a distancia (M) fue inicialmente propuesta en 1954 por la Unión Internacional Contra el Cáncer (UICC).

Las diversas combinaciones de las subcategorías de T, N, y M definen cuatro estadios designados como I, II, III, y IV en orden ascendente de gravedad. Cada uno de ellos identifica un grupo de tumores que se cree tienen un pronóstico similar.

Sucesivamente, se han introducido revisiones, ampliaciones y modificaciones en esta clasificación, siendo la última edición la correspondiente a 2010, del AJCC Cancer Staging Manual ⁽⁸⁸⁾.

1.3.1.2.1. SISTEMA TNM (TNM)

(Excluimos posteriormente la clasificación de la afectación metastásica (M), al no ser objeto de nuestro estudio sobre factores pronósticos).

a. Clasificación clínica: cTN

a.1. (cT): Tumor primario.

cTx: No se puede evaluar el tumor primario.

cT0: No existen signos de tumor primario.

cTis: Carcinoma in situ: carcinoma intraductal o carcinoma lobular in situ, o enfermedad de Paget del pezón sin tumor.

(La enfermedad de Paget asociada a un tumor se clasifica en función del tamaño del tumor).

cT1: Tumor de diámetro máximo menor o igual a 2 centímetros (cm).

cT1mic: Microinvasión de 0.1 cm o menos de dimensión máxima.

La microinvasión es la extensión de las células cancerosas más allá de la membrana basal en los tejidos adyacentes, sin que ningún foco tenga más de 0.1 cm de dimensión máxima. Cuando hay múltiples focos de microinvasión, para clasificarla sólo se utiliza la medida del foco de mayor tamaño. No se suman las dimensiones de los focos individuales. La presencia de múltiples focos de microinvasión se debe anotar, al igual que la existencia de carcinomas invasivos múltiples de mayor tamaño.

cT1a: Diámetro máximo mayor de 0.1 pero menor o igual a 0.5 cm.

cT1b: Diámetro máximo mayor a 0.5 cm pero menor o igual 1 cm.

cT1c: Diámetro máximo mayor de 1 cm pero menor o igual a 2 cm.

cT2: Tumor de diámetro máximo mayor de 2 cm, pero menor o igual a 5 cm.

cT3: Tumor de diámetro máximo mayor de 5 cm.

cT4: Tumor de cualquier tamaño con extensión directa a la pared del tórax o a la piel.

(La pared torácica incluye las costillas, los músculos intercostales y el músculo serrato mayor, pero no los músculos pectorales).

cT4a: Extensión a la pared torácica (excluyendo adherencia o invasión del músculo pectoral).

cT4b: Edema (incluida piel de naranja), o ulceración de la piel de la mama, o presencia de nódulos cutáneos satélites confinados a la misma mama.

cT4c: 4a y 4b conjuntamente.

cT4d: carcinoma inflamatorio.

El carcinoma inflamatorio de mama se caracteriza por una induración de la piel con un borde erisipeloide, generalmente sin ninguna masa palpable subyacente. Si la biopsia de piel es negativa y no existe un cáncer primario localizado medible, al realizar la clasificación anatómo-patológica de un carcinoma inflamatorio clínico (T4d), la categoría T correspondiente es pTx.

La presencia de pequeñas depresiones de la piel, la retracción del pezón u otros cambios cutáneos (excepto los descritos en las categorías T4b y 4d) pueden aparecer en las categorías T1, T2 y T3 sin que afecte a la clasificación.

a.2. (cN): Ganglios linfáticos.

cNx: No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales.

cN0: No se demuestran metástasis ganglionares regionales.

cN1: Metástasis en ganglios axilares ipsilaterales móviles.

cN2: Metástasis en ganglios axilares ipsilaterales fijados a otro ganglio u otra estructura o, metástasis clínicamente detectadas en cadena mamaria interna ipsilateral en ausencia de metástasis en ganglios axilares clínicamente evidentes.

cN2a.- Metástasis ipsilaterales en ganglios axilares fijos entre sí o en otras estructuras.

cN2b.- Metástasis detectadas clínicamente en cadena mamaria interna ipsilateral en ausencia de metástasis en ganglios axilares clínicamente evidentes.

cN3: Metástasis en ganglios infraclaviculares ipsilaterales con o sin afectación axilar o, metástasis en cadena mamaria interna ipsilateral detectadas clínicamente y metástasis en ganglios axilares o, metástasis en ganglios supraclaviculares ipsilaterales con o sin afectación axilar y de la cadena mamaria interna.

cN3a.- Metástasis infraclaviculares ipsilaterales.

cN3b.- Metástasis en cadena mamaria interna ipsilateral y metástasis en ganglios axilares.

cN3c.- Metástasis en ganglios supraclaviculares ipsilaterales.

a.3. (cM): Metástasis.

cMx: No se pueden evaluar las metástasis a distancia.

cM0: No hay evidencia radiológica ni clínica de metástasis a distancia.

cM1: Presencia radiológica o clínica de metástasis a distancia.

b. Clasificación anátomo-patológica (AP): pTN**b.1. (pT): Tumor primario.**

La clasificación anátomo-patológica requiere la exploración del carcinoma primario sin tumor macroscópico en los márgenes de resección. Una neoplasia puede ser clasificada como pT si sólo existe un tumor microscópico en el margen. Las categorías pT se corresponden con las categorías T. En la clasificación pT el tamaño del tumor es una medida del componente invasivo.

b.2. (pN): Ganglios linfáticos regionales.

La clasificación anátomo-patológica requiere la resección y la exploración de, al menos, los ganglios linfáticos axilares (nivel I). La resección incluirá habitualmente 10 o más ganglios linfáticos.

pNx: No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales (no extirpados para su estudio o extirpados previamente).

pN0: No existen metástasis en los ganglios linfáticos regionales.

pN0(i -).- No existen metástasis en los ganglios linfáticos regionales detectadas histológicamente ni por técnica inmuno-histoquímica.

pN0(i+).- Existen metástasis en los ganglios linfáticos regionales no mayores de 0.2 mm detectadas por tinción con hematoxilina-eosina (H & E) o inmunohistoquímica .

pN0(mol-).- No existen metástasis en los ganglios linfáticos regionales detectadas histológicamente, hallazgos moleculares negativos con técnica de detección de Reacción de la Cadena de Polimerasa de Transcripción Reversa (RT-PCR).

pN0(mol+).- Existen hallazgos moleculares positivos (RT-PCR), pero no metástasis en los ganglios linfáticos regionales detectadas por histología o inmunohistoquímica.

pN1: Micrometástasis o metástasis en uno a tres ganglios linfáticos axilares, y/o en los ganglios mamarios internos con metástasis detectada por biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC), pero no detectados clínicamente*.

pN1mic.- Micrometástasis (mayor de 0.2 milímetros (mm) y/o más de 200 células, pero ninguna mayor de 2.0 mm).

pN1a.- Metástasis en 1 a 3 ganglios axilares, al menos una metástasis mayor de 2.0 mm.

pN1b.- Metástasis en los ganglios mamarios internos con micrometástasis o macrometástasis detectada por BSGC pero no clínicamente detectada*.

pN1c.- Metástasis en 1 a 3 ganglios axilares y en ganglios mamaros internos con micrometástasis o macrometástasis detectada por BSGC pero no clínicamente detectada*.

pN2: Metástasis en 4 a 9 ganglios axilares o, en la cadena mamaria interna detectados clínicamente** en ausencia de metástasis en ganglios axilares.

pN2a.- Metástasis en 4 a 9 ganglios linfáticos axilares (por lo menos un depósito tumoral mayor de 2.0 mm).

pN2b.- Metástasis sólo detectada clínicamente** en ganglios mamaros internos ipsilaterales y en ausencia de metástasis en los ganglios axilares clínicamente evidentes.

pN3: Metástasis en 10 o más ganglios axilares, o en ganglios infraclaviculares, o en ganglios de la cadena mamaria interna ipsilateral clínicamente detectados** en presencia de uno o más ganglios axilares positivos, o afectación de más de 3 ganglios axilares y micrometástasis, o macrometástasis en ganglios de la cadena mamaria interna detectados por (BSGC) pero no detectados clínicamente*, o afectación ipsilateral de ganglios supraclaviculares.

pN3a.- Metástasis en 10 o más ganglios linfáticos axilares (por lo menos un depósito tumoral mayor de 2.0 mm), o metástasis en ganglios infraclaviculares (nivel III de los linfáticos axilares).

pN3b.- Metástasis clínicamente detectada** en ganglios linfáticos de la cadena mamaria interna ipsilateral en presencia de afectación de uno o más ganglios axilares o, metástasis en más de tres ganglios axilares y afectación macroscópica o microscópica de ganglios de la cadena mamaria interna detectados por BSGC pero no detectados clínicamente*.

pN3c.- Metástasis en los ganglios linfáticos supraclaviculares ipsilaterales.

* No detectada clínicamente ni en estudios de imagen ni en exploración física.

** Clínicamente detectada se refiere a detección por estudios de imagen, o se establece por exploración clínica la sospecha de malignidad, o se presumen macrometástasis en la evaluación anátomo-patológica de la citología obtenida por biopsia-aspiración.

b.3. (pM): Metástasis.

Las categorías pM se corresponden con las categorías cM.

Debido a que un tumor ha podido variar su clasificación según las diferentes versiones del sistema TNM, se considera más adecuado evaluar siempre el T y el N individualmente en relación al pronóstico, más que el estadio globalmente ⁽⁸⁹⁾.

Además, estudios recientes revelan las limitaciones inherentes al cálculo del riesgo basándose únicamente en esta categorización ⁽⁹⁰⁾.

Dividiremos entonces el T y el N y evaluaremos particularmente cada uno de ellos:

1.3.1.2.2. TAMAÑO TUMORAL (T)

El tamaño macroscópico (diámetro máximo que se obtiene de la medición del tumor en al menos dos dimensiones) se considera uno de los más importantes factores pronósticos independientemente de la afectación ganglionar ⁽⁹¹⁾.

Varias publicaciones avalan esta afirmación. En algunos estudios se han visto cifras de supervivencia superiores al 95% para tumores menores de 2 cm sin afectación de la axila, e inferiores al 46% si el tamaño del tumor era mayor de 5 cm con afectación axilar ⁽⁹²⁾. Diferentes investigaciones han encontrado un excelente pronóstico cuando la neoplasia mide menos de 1 cm. Un sub-análisis de los estudios NSABP B-6, B-13, B-14, B-19 y B-20 reveló la existencia de un 92% de supervivencia a los 8 años en el grupo de mujeres con tumores menores de 1 cm sin implicación de la axila ⁽⁹³⁾. Las pacientes cuyo tumor mide 2 cm. o menos tienen un pronóstico y una supervivencia significativamente mayor comparada con las pacientes con tumores más grandes ⁽⁹⁴⁾.

Otra reciente publicación nos confirma la buena evolución cuando el tamaño tumoral es subcentimétrico ⁽⁹⁵⁾.

La correcta medición del tumor es esencial y debe ser muy precisa, puesto que va a modificar el estadio tumoral. Varios artículos han examinado el paralelismo entre el tamaño tumoral medido por el patólogo y el medido en el estudio de imagen. En la mayoría de los casos se infravaloraba en la imagen el tamaño real de la neoplasia, especialmente en los casos de carcinoma lobulillar infiltrante cuando se comparaba con el proporcionado por el patólogo. La forma de crecimiento y las características histológicas de la neoplasia pueden justificar las variaciones en la evaluación radiológica. Igualmente la impresión diagnóstica macroscópica difiere de la evaluación histopatológica ⁽⁹⁶⁻⁹⁸⁾. Las asociaciones de patólogos europeos y americanos recomiendan la medición microscópica total y del componente infiltrante; éste último es el parámetro óptimo a computar como T (tamaño tumoral) para el estadio. La medición exacta del tamaño tumoral debe de ser considerada obligatoria en los informes de anátomo-patológicos ⁽⁹⁹⁾.

Aunque es una variable independiente, se ha observado una relación directa entre tamaño tumoral y probabilidad de metástasis ganglionares axilares ⁽¹⁰⁰⁻¹⁰¹⁾. Estas metástasis están presentes en el 26% de los tumores de 1 cm. o menos de diámetro, y en el 78% en los de más de 10 cm ⁽¹⁰²⁾.

1.3.1.2.3. METÁSTASIS GANGLIONARES (N)

Se ha demostrado repetidamente como el parámetro único más potente para predecir la supervivencia ^(92, 103). Su importancia ha sido confirmada por el metanálisis del EBCTCG (Early Breast Cancer Trialist's Collaborative Group). La supervivencia libre de recaída a los 10 años y la supervivencia global fue peor en pacientes con afectación axilar frente a los que no la tenían: 29.5 % versus 54.5 % y 39.8 % versus 63.2 % respectivamente ⁽¹⁰⁴⁻¹⁰⁵⁾.

El exacto conocimiento del estado de los ganglios axilares requiere el examen de un número suficiente de ellos, pues existe una relación estrecha y lineal entre el número de ganglios infiltrados y la supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global ^(69, 101). Esta relación se mantiene a pesar del tratamiento con quimioterapia ⁽¹⁰⁰⁾. Hasta la década de los noventa se consideraba que debían de obtenerse al menos diez ganglios axilares para definir correctamente el estadio ganglionar ⁽¹⁰⁶⁾.

Se han observado diferentes situaciones clínicas de afectación ganglionar ligadas a un peor pronóstico. Las pacientes con ganglios axilares adheridos parecen tener peor pronóstico que aquellas con adenopatías axilares móviles o no palpables ⁽¹⁰⁷⁾. Igualmente, la presencia de metástasis en los ganglios de la cadena mamaria interna se asocia con una menor supervivencia ⁽¹⁰⁸⁻¹¹¹⁾. La afectación de los ganglios supraclaviculares también confiere mayor riesgo de recidiva ⁽¹¹²⁾, pues éstos son generalmente alcanzados después de la invasión de las adenopatías axilares o de las de

la mamaria interna ⁽¹¹³⁻¹¹⁴⁾. Otros hallazgos asociados con un pronóstico desfavorable incluyen la extensión extracapsular ganglionar ⁽¹¹⁵⁻¹¹⁶⁾ y la afectación de los linfáticos apicales ⁽¹¹⁷⁻¹¹⁸⁾.

Teniendo en cuenta la vital importancia de la acertada estadificación axilar, considerando para ello como cirugía estándar de la axila la identificación y examen patológico de al menos 10 ganglios de nivel II, se hacía imprescindible concebir una metodología que permitiese aunar mínima morbilidad y correcto estadio axilar ⁽¹¹⁹⁻¹²⁰⁾. La morbilidad a corto, medio y largo plazo de la linfadenectomía axilar y la eficacia de los métodos de screening detectando neoplasias más precoces sin afectación de la axila condujeron al desarrollo de la técnica de la biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC) basada en la fisiología del drenaje linfático normal ⁽¹²¹⁻¹²²⁾. Actualmente la biopsia selectiva de ganglio centinela (BSGC) es un procedimiento aceptado para la adecuada estadificación axilar del cáncer de mama que, permite seleccionar un subgrupo de pacientes susceptible de cirugía conservadora en la axila ⁽¹²³⁻¹²⁴⁾. Asimismo, la identificación de metástasis ganglionares por esta técnica ya se recoge en el actual sistema TNM ⁽⁸⁸⁻⁸⁹⁾ y diversos estudios prospectivos ⁽¹²⁵⁻¹²⁸⁾ y metanálisis ⁽¹²⁹⁾ han confirmado su seguridad.

El significado biológico de las metástasis ocultas o microscópicas (sólo identificadas en cortes rutinarios o secciones seriadas microscópicas) en las adenopatías axilares de pacientes con cáncer de mama es controvertido ⁽¹³⁰⁾. Hoy por

hoy se aconseja el estudio del ganglio centinela en fragmentos con espesor de alrededor de 2 mm, utilizando tinciones de hematoxilina-eosina (H & E) y técnicas inmunohistoquímicas en vistas a la detección de micrometástasis (enfermedad que mide 0.2-2.0 mm en ganglios linfáticos) y de células tumorales aisladas. La importancia de su hallazgo se ha puesto de manifiesto en el estudio MIRROR, observándose la diferencia en supervivencia libre de recaída entre un abordaje conservador o terapéutico posterior, con linfadenectomía estándar o radioterapia axilar ⁽¹³¹⁾. En un estudio del Colegio Americano de Cirujanos parece haber correlación entre la recurrencia y el hallazgo de micrometástasis en el ganglio centinela, no estando tan clara la asociación cuando únicamente se observan por técnicas inmunohistoquímicas o solo se visualizan células tumorales aisladas ⁽¹³²⁾. En un metanálisis publicado recientemente se confirma de nuevo su importancia pronóstica ⁽¹³³⁾. Parece claro entonces que el manejo de las pacientes en esta situación debería ser más agresivo que el de aquellas sin afectación ganglionar ⁽¹³⁰⁻¹³²⁾. Sin embargo, nuevas investigaciones intentan mejorar los resultados no solo en tasa de recaídas sino también en morbilidad, proponiendo que en ciertos casos pudiera evitarse la linfadenectomía axilar en pacientes con micrometástasis en ganglio centinela, manteniendo el tratamiento adyuvante similar al que se administraría a las pacientes con afectación axilar ⁽¹³⁴⁻¹³⁵⁾.

En conclusión, la afectación ganglionar axilar de cualquier tipo tiene un efecto negativo, siendo probablemente el de mayor consistencia, sobre el pronóstico de las enfermas con cáncer de mama que deberían beneficiarse de tratamientos complementarios posteriores ⁽¹³¹⁻¹³²⁾.

1.3.1.3. TIPO TUMORAL

En 1997 Northridge, tras un estudio de casi 140 000 casos de cáncer de mama, confirmó la asociación entre el riesgo de muerte y la histología del tumor sugiriendo que debería tenerse en cuenta también su influencia pronóstica ⁽¹³⁶⁾.

Alrededor del 80% de los tumores invasivos de mama pertenecen a la variedad ductal, suponiendo el carcinoma lobulillar entre el 5-15% según las series. La tasa de recaída y el pronóstico de ambos se considera similar ⁽¹³⁷⁻¹³⁸⁾, pero el grado de diferenciación parece no ser importante en este último ⁽¹³⁹⁾.

Aunque no todos los autores consideran que el tipo histológico sea un factor pronóstico independiente ^(76, 140), otros investigadores defienden su valor, dividiendo las neoplasias mamarias en cuatro subgrupos pronósticos: excelente, bueno, pobre y muy pobre ⁽¹⁰¹⁾.

Los tumores invasivos cribiformes y tubulares ⁽¹⁴¹⁾, tubulo-lobulares y mucinosos ⁽¹⁴²⁾ presentan una supervivencia superior al 80% a los 10 años ⁽¹⁴³⁾. No obstante, las neoplasias mucinosas que presentan un patrón morfológico micropapilar pueden estar asociadas a afectación axilar, alto grado histológico, expresión de Her2-neu, pequeño tamaño tumoral y edad temprana de presentación ⁽¹⁴⁴⁾.

Las variedades tubular mixta, ductal mixta, medular atípica y alveolar tubular muestran una supervivencia entre el 60-80% a los 10 años ⁽¹⁰¹⁾.

Los subtipos papilar invasivo, lobular clásico y medular ⁽¹⁴⁵⁾ tienen peor pronóstico que los anteriores ⁽¹⁴⁶⁾, y las histologías lobulares sólidas, ductales mixtas y lobulares presentan la mayor tasa de recaídas.

El carcinoma adenoide quístico, poco común, suele asociar un bajo grado histológico y una pequeña frecuencia o incluso ausencia de metástasis ganglionares axilares; lo que determina un buen pronóstico aún cuando característicamente no se observa expresión de receptores hormonales ⁽¹⁴⁷⁾.

Los carcinomas pobremente diferenciados, en anillo de sello, carcinoma inflamatorio ⁽¹⁴⁸⁾, así como los carcinosarcomas, son considerados como neoplasias agresivas y de baja frecuencia de presentación ⁽¹⁴⁹⁾.

Ciertos tipos de tumores mamarios como los mucinosos, lobulares o tubulares presentan mayormente expresión de receptores estrogénicos, mientras que los medulares y el comedocarcinoma rara vez. Algunas publicaciones han intentado relacionar determinadas histologías con subtipos moleculares, como por ejemplo el carcinoma lobular y el subtipo molecular Luminal A ⁽¹⁵⁰⁾ y el carcinoma medular con el subtipo Triple negativo ⁽¹⁵¹⁾ y la mutación del gen BRCA-1 ⁽⁸¹⁾.

1.3.1.4. GRADO TUMORAL

El grado tumoral es otro indicador pronóstico importante aunque no sea utilizado en el proceso de estadificación. Ya en 1950, Bloom ⁽¹⁵²⁻¹⁵³⁾ examinó los diversos sistemas de graduación utilizados en la medición de la diferenciación de una neoplasia y propuso un método que valoraba tres factores:

- 1º) el grado de formación de túbulos,
- 2º) la regularidad en el tamaño, la forma y el carácter de tinción del núcleo, y
- 3º) la hiperchromasia nuclear y la actividad mitótica.

Asentándose en la evaluación subjetiva por el patólogo de estos hallazgos, los tumores fueron clasificados como de bajo, moderado, o alto grado de malignidad ⁽¹⁵⁴⁾.

A cada uno de los tres factores anteriormente señalados se les asignaba una puntuación de 1 a 3, correspondiendo a su presencia en leve, moderado o marcado grado. Por tanto, podía ser alcanzada una calificación total de 3 a 9 para un determinado tumor. Una calificación de 3 a 5 etiquetaba a los carcinomas como un tumor de grado I (bien diferenciado), 6 ó 7 como grado II (moderadamente diferenciado), y 8 ó 9 como grado III (poco diferenciado).

Este sistema es conocido como el “grado de diferenciación histológico de Scarf-Bloom-Richardson”, que hace referencia a la diferenciación histológica o tisular, al grado y pleomorfismo nuclear y al índice mitótico de un tumor.

Posteriormente Elston, en un intento de mejorar el aspecto objetivo del sistema de medición, propuso una modificación del método de Scarf-Bloom-Richardson, debido a la dificultad en la reproducibilidad y consistencia de dicha evaluación. Señaló, además, que el grado histológico evaluado en 1.831 pacientes mostraba una fuerte correlación con el pronóstico y las pacientes con tumores de grado I tenían una supervivencia significativamente mayor que aquellas con grado II y III ($P < 0,0001$) ⁽¹⁵⁵⁾. Estos resultados confirmaban que este método de clasificación histológica proporciona información pronóstica y, si el protocolo de clasificación es seguido consistentemente, se podrían obtener resultados reproducibles.

1.3.1.5. ÍNDICE PRONÓSTICO DE NOTTINGHAM

La metodología utilizada actualmente es este sistema modificado por Elston y Ellis: “el índice pronóstico de Nottingham” (NPI). Este índice tiene como pilares las más importantes características pronósticas de un tumor: su tamaño, el grado histológico y el estado de los ganglios linfáticos. Se basa en un análisis retrospectivo de nueve factores en 387 pacientes. Sólo 3 de ellos (el tamaño del tumor, estadio de la enfermedad, y el grado tumoral) siguieron siendo significativos en el análisis multivariante. El índice fue validado posteriormente en un estudio prospectivo de 320 pacientes y aplicado a otra serie con 1.629 pacientes ⁽¹⁵⁶⁾.

La fórmula para obtenerlo es la siguiente:

$$\text{NPI} = 0,2 \times \text{tamaño tumoral (cm)} + \text{estadio de los ganglios linfáticos (1, 2, 3)} + \text{grado tumoral (1, 2, 3)}.$$

El valor más pequeño del NPI, tiene el mejor pronóstico.

Su importancia sigue vigente hoy en día, siendo uno de los factores pronósticos de vital trascendencia, manteniéndose ligado a la supervivencia libre de progresión y a la supervivencia global ⁽¹⁵⁷⁾. Algunos autores sostienen que el NPI puede ser utilizado en combinación con factores predictivos, como los receptores hormonales o la expresión de Her2-neu, para seleccionar tratamientos sistémicos adyuvantes ⁽¹⁵⁸⁻¹⁵⁹⁾.

Para proporcionar una técnica coherente y uniforme en la evaluación del grado histológico y para mejorar su reproducibilidad, se han publicado Criterios de Consenso y Guías con la Evaluación Crítica de estas cuestiones y Recomendaciones de Buenas Prácticas Clínicas ⁽¹⁶⁰⁻¹⁶¹⁾. Este abordaje proporciona un método de bajo coste y sencillo, preciso para la evaluación de las características biológicas del tumor y el pronóstico del paciente.

Aún en la era de las técnicas moleculares, con su creciente importancia pronóstica, no se debe desechar la eficacia del NPI debiendo complementarse la información obtenida por ambos sistemas de valoración ⁽¹⁶²⁾.

1.3.1.6. INVASIÓN VASCULAR LINFÁTICA

Los vasos sanguíneos y los linfáticos que rodean a un carcinoma ductal infiltrante pueden estar invadidos por células tumorales. La invasión vascular linfática es un importante factor pronóstico para los pacientes con cáncer de mama operable. En los pacientes sin afectación ganglionar linfática, la invasión vascular linfática es un predictor de mal pronóstico, de recurrencia precoz y metástasis a distancia ⁽¹⁶³⁻¹⁶⁴⁾. En aquellos con afectación adenopática, la invasión vascular linfática es un marcador de alto riesgo de muerte indicando mayor probabilidad de fracaso terapéutico ⁽¹⁶⁵⁾.

La invasión vascular linfática por células tumorales es evidente histológicamente en aproximadamente el 15% de los carcinomas ductales infiltrantes de mama y en casi el 10% de los tumores sin afectación ganglionar. Indica un pronóstico desfavorable en términos de recaída local y reducción de la supervivencia global, por eso se recomienda su evaluación en el estudio anátomo-patológico de la pieza tumoral ⁽¹⁶⁶⁾.

Esta valoración presenta, en ocasiones, ciertas dificultades técnicas. La evidencia de invasión vascular linfática en la pieza teñida con H & E se ha añadido a los criterios de Saint Gallen para determinar la elección de tratamiento adyuvante de pacientes con cáncer de mama intervenidas.

Nuevos marcadores específicos del endotelio, como D2-40, hacen que sea posible distinguir entre la invasión vascular venosa y la invasión vascular linfática. La presencia de invasión vascular venosa perdió significación estadística en un estudio al compararse con la invasión vascular linfática que la mantuvo como factor pronóstico independiente, asociándose a la presencia de metástasis en ganglios linfáticos axilares. En el análisis multivariante, la invasión vascular linfática peritumoral fue el único factor pronóstico independiente de metástasis ganglionares ⁽¹⁶⁷⁾. En el caso de ausencia de afectación ganglionar constituye un indicador aún de mayor potencia ⁽¹⁶⁸⁾.

Otros estudios también han intentado comparar invasión vascular venosa e invasión vascular linfática y determinar cuál de las dos representa un indicador de mal pronóstico. Para ello se han utilizado técnicas inmunohistoquímicas para comprobar la expresión de CD34 y CD31 para invasión vascular venosa y de podoplanina/D2-40 (marcadores de vasos linfáticos) para la invasión vascular linfática. Se ha confirmado la asociación, estadísticamente significativa en el análisis multivariante, de invasión vascular linfática con metástasis ganglionares axilares, mayor tamaño tumoral, desarrollo de metástasis a distancia, recurrencia loco-regional y peor supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global ⁽¹⁶⁹⁻¹⁷⁰⁾.

En pacientes con cáncer de mama Triple Negativo no se vieron cambios en invasión vascular linfática y/o invasión vascular venosa con respecto a otros subtipos tumorales. Sin embargo, se observó una mayor frecuencia de metástasis viscerales en este subgrupo, lo que ratifica un diferente comportamiento biológico ⁽¹⁷¹⁾.

1.3.2. FACTORES PRONÓSTICOS AUXILIARES PENDIENTES DE VALIDACIÓN

Ante la progresiva reducción de la proporción de pacientes con afectación axilar y con ello la pérdida de su influencia pronóstica gracias a la mamografía de screening, emerge la necesidad de evaluar otras posibles variables que pudieran ayudarnos a predecir el riesgo de recaída y de muerte.

En la actualidad la elección del tratamiento de pacientes con cáncer de mama se basa principalmente en el estadio del tumor en el momento del diagnóstico, el número de ganglios axilares con metástasis, el tamaño tumoral y el estado de los receptores de estrógeno y de progesterona junto a la expresión de Her2-neu. El tipo y grado tumoral, la invasión vascular linfática e invasión vascular venosa y otros factores como el estudio de la ploidía y la fracción de la fase S también han sido utilizados. Con todo, es prácticamente imposible determinar el curso de la enfermedad incluso en pacientes sin evidencia de metástasis en ganglios axilares sin tratamiento sistémico complementario. El tumor recidivará en aproximadamente el 30% de las mujeres sin afectación ganglionar y algunas recomendaciones, ya en 1988, instaban a que las pacientes, incluso aquellas que son “ganglio-negativas”, recibieran terapia adyuvante sistémica ⁽¹⁷²⁾.

Sin embargo, ya que esta terapia no está desprovista de riesgos y no todas las mujeres se benefician en la misma medida ⁽¹⁷³⁾, se ha convertido en un objetivo importante en la investigación del cáncer de mama la identificación de biomarcadores

o indicadores que puedan ayudar a diferenciar a las pacientes con buen pronóstico de aquellas que necesiten terapia adicional. Esta necesidad es debida a la mayor probabilidad de recidiva y desarrollo de metástasis en este último grupo y, por tanto, sean quienes verosímilmente se beneficien de la terapia complementaria.

Se han estudiado otros parámetros que en diversas investigaciones han demostrado su valor pronóstico. Entre ellos:

1.3.2.1. Ki-67

El antígeno Ki-67 fue identificado por Gerdes y sus colaboradores en 1991 como una proteína nuclear tipo no histona. Al poco tiempo fue descubierto el anticuerpo correspondiente por el mismo grupo en la ciudad de Kiel (de ahí su nombre), después de la inmunización de ratones infectados con líneas celulares de linfoma de Hodgkin. La ausencia de Ki-67 en células quiescentes y su expresión universal en tejidos en los que se observaba proliferación celular generó un gran interés en su potencial funcionalidad como marcador de proliferación celular ⁽¹⁷⁴⁾.

El aspecto clínico y la localización de la proteína Ki-67 es variable y heterogénea durante las diferentes fases del ciclo celular. Durante el inicio de la fase G1 se observa una débil tinción que progresivamente aumenta por condensación en gránulos situados alrededor del nucleolo. Durante las fases S y G2 se encuentra principalmente

en la región del nucleolo y alrededor de la heterocromatina nuclear. Cuando la membrana nuclear se rompe durante la mitosis temprana, Ki-67 muestra una intensa expresión asociada a la condensación de los cromosomas en el citoplasma. Esta intensidad desaparece en anafase y en telofase. Su medición se puede realizar por técnicas inmunohistoquímicas asequibles.

Se ha mantenido el interés en su determinación desde su descubrimiento porque, comparado con otros marcadores de proliferación, es sencilla de realizar, económica y fácilmente reproducible ⁽¹⁷⁵⁾.

El antígeno Ki-67 reconoce las células proliferantes dentro de un tumor y, cuanto mayor es su presencia, más agresividad confiere a la neoplasia. La positividad de Ki-67 se correlaciona directamente con el grado de diferenciación tumoral, la invasión vascular venosa, y metástasis en ganglios linfáticos e inversamente con la presencia de receptores hormonales, además de con otros indicadores de proliferación como la proporción de células en la fase S del ciclo celular ⁽¹⁷⁶⁾.

A pesar de la información disponible sobre la naturaleza, localización y secuenciación de la proteína Ki-67, hay un gran interés sobre su función, más allá de ser una proteína fosforilada de la vía serina-treonina con un papel fundamental en la división celular. Se ha observado detención de la proliferación celular cuando Ki-67 es inactivado por la inyección de anticuerpos que lo bloquean o por inhibición de la defosforilación, en modelos preclínicos ⁽¹⁷⁷⁾.

Progresivamente aparecen datos a favor de la capacidad de Ki-67 para discriminar grupos de buen y mal pronóstico entre las pacientes con cáncer de mama sin afectación ganglionar tumoral, cuando la consideramos como variable única ^(168, 178). Pero, cuando hay afectación ganglionar parece perder potencia en el análisis multivariante en algunas publicaciones ⁽¹⁷⁴⁾.

Sin embargo, otro estudio con amplio seguimiento observa que un valor de Ki-67 superior al 10% se asocia a disminución de la supervivencia libre de enfermedad, tanto con o sin afectación ganglionar ⁽¹⁷⁹⁾.

En un metanálisis de 46 artículos científicos y más de 12000 pacientes se demostró el valor pronóstico de Ki-67 en relación a la supervivencia libre de enfermedad y a la supervivencia global ⁽¹⁸⁰⁾.

Además de un signo de mal pronóstico, un valor elevado de Ki-67 pudiera ser factor predictivo de respuesta tumoral a la quimioterapia. Diferentes revisiones han relacionado la respuesta a tratamiento hormonal y quimioterápico con la disminución del valor de Ki-67 durante el mismo.

Guarneri diseña incluso un modelo pronóstico de riesgo tras quimioterapia neoadyuvante teniendo en cuenta la medida de Ki-67 y la afectación ganglionar ⁽¹⁸¹⁾.

En un ensayo clínico con Letrozol neoadyuvante frente a la combinación de Letrozol y Everolimus en pacientes hormonosensibles, se observa mejor respuesta

clínica además de una respuesta antiproliferativa, definida por una reducción de la expresión de Ki-67 respecto a su valor inicial, con la combinación ⁽¹⁸²⁾.

En el estudio IMPACT los cambios en el valor de Ki-67 se utilizan como marcador farmacodinámico de eficacia de Anastrozol, Tamoxifeno o ambos previos a la cirugía. La conclusión del mismo recoge que la medición de las variaciones de Ki-67 previa y tras doce semanas de tratamiento, puede mejorar la predicción de la supervivencia libre de recaída ⁽¹⁸³⁾.

Basándose en el estudio PO24 con Letrozol preoperatorio ⁽¹⁸⁴⁾ y, validándose las variables que lo componen en el IMPACT, se desarrolló el índice pronóstico endocrino preoperatorio (PEPI), compuesto por las siguientes variables: tamaño tumoral, afectación ganglionar, expresión de receptor estrogénico y niveles de Ki-67. A cada variable se le daba un valor numérico, la puntuación obtenida era la suma de los mismos (PEPI) y se correlacionaba con la supervivencia libre de recaída y la respuesta al tratamiento hormonal ⁽¹⁸⁵⁾.

El grupo español GEICAM (Grupo Español de Investigación en Cáncer de Mama) presentó en el Congreso de ASCO (Sociedad americana de Oncología Clínica) en 2010 los datos sobre el estudio en neoadyuvancia GEICAM 2006-03, en el que se comparaba la respuesta a tratamiento hormonal frente a quimioterapia. Las pacientes con un Ki-67 alto al inicio presentaban un 67% de respuestas a quimioterapia y sólo un 42% al tratamiento hormonal, siendo esta diferencia significativa ⁽¹⁸⁶⁾.

En el contexto adyuvante el valor predictivo de respuesta a terapia está menos estudiado. Viale analizó Ki-67 en casi 2000 muestras de pacientes sin afectación ganglionar tratadas con quimioterapia y hormonoterapia frente a hormonoterapia únicamente. Los niveles elevados de Ki-67 se relacionaron con peor supervivencia libre de recaída pero, no con la respuesta a quimioterapia o tratamiento hormonal, lo que sugiere importancia pronóstica pero no capacidad predictiva de respuesta ⁽¹⁸⁷⁾.

En otro artículo del mismo autor refiriendo datos de mujeres del estudio BIG 1-98 ⁽¹⁸⁸⁻¹⁸⁹⁾ se confirma la importancia pronóstica de este parámetro al observar que niveles altos de Ki-67 al inicio se asocian con mayor beneficio en supervivencia libre de enfermedad con Letrozol frente a Tamoxifeno ⁽¹⁹⁰⁾.

En el estudio francés PACS 01 ⁽¹⁹¹⁾ se estudió la respuesta a Docetaxel y a Antraciclinas en relación a los niveles de expresión de Ki-67 en pacientes con receptores estrogénicos positivos, concluyendo que el subgrupo con elevación de Ki-67 presentaba mejor respuesta al añadir el taxano al régimen con antraciclinas ⁽¹⁹²⁾.

También en el estudio BCIRG 001 ⁽¹⁹³⁾ se observa un beneficio en supervivencia libre de enfermedad a los tres años añadiendo Docetaxel al tratamiento quimioterápico en las enfermas hormonosensibles, pero únicamente en aquellas con un Ki-67 alto ⁽¹⁹⁴⁾.

En la actualidad las investigaciones sobre su posible papel como indicador pronóstico aumentan. Desde que Perou identificó por primera vez diversos subtipos de cáncer de mama con diferentes patrones de expresión génica basados en agrupaciones (“clusters”) de genes ⁽¹⁹⁵⁾ y, la expresión de las agrupaciones de genes de alta proliferación se correlacionaban con las variables inmunohistoquímicas de proliferación del tumor, como Ki-67, y con el pronóstico ⁽¹⁹⁶⁻¹⁹⁹⁾, se establecieron subtipos tumorales diferentes dentro del grupo con expresión de receptores hormonales ⁽²⁰⁰⁾. El subtipo Luminal A (LA) expresa con mayor intensidad los genes del cluster de receptores hormonales y presenta baja expresión de genes asociados a proliferación como Ki-67 ^(196, 199, 201) y, como consecuencia, mejor pronóstico que el subtipo Luminal B (LB). Este último presenta mayor expresividad de genes de proliferación y, por tanto, mayores niveles de Ki-67, mayor porcentaje de mutaciones del gen TP53 y menor expresión de receptores hormonales ⁽⁴⁾.

En una reciente publicación de Sotiriou utilizando variables clínico-patológicas del tumor, inmunohistoquímicas y perfiles de expresión génica, se establece ya la diferenciación entre subtipos Luminal A y Luminal B según el nivel de Ki-67 ⁽²⁰²⁾.

Esta observación se confirmó en otra publicación en la cual se medían receptores de estrógeno (RE), receptores de progesterona (RP), expresión de Her2-neu y Ki-67 por inmunohistoquímica (comúnmente realizado en nuestra práctica clínica diaria en las muestras anátomo-patológicas), distinguiendo subtipos Luminal A y Luminal B y, relacionando a este último con peor supervivencia libre de recaída y peor

supervivencia específica por cáncer de mama, a pesar de recibir tratamiento complementario. En particular, en las mujeres que sólo habían recibido Tamoxifeno, existía una diferencia de alrededor del 20% en la supervivencia específica por cáncer de mama a los 10 años entre subtipos luminales⁽²⁰³⁾.

Es de esperar, pues, que los estudios en curso ratifiquen el papel pronóstico de Ki-67 que se vislumbra en el presente y, actualicen las recomendaciones en el uso de marcadores tumorales y biomarcadores de las guías ASCO 2007⁽²⁰⁴⁾.

1.3.2.2. p53

El gen TP53, localizado en el cromosoma 17, es un estabilizador genómico que actúa como inhibidor de la progresión del ciclo celular y facilita la muerte celular programada. Las mutaciones de la proteína p53, secuenciada por este gen, llevan a una pérdida en la regulación del ciclo celular, encontrándose en el 20% de los cánceres de mama mediante secuenciación de DNA.

La mutación de p53 se considera un factor de mal pronóstico por determinar pérdida de la función supresora, activación del crecimiento celular y aumento del riesgo de progresión de la neoplasia. La forma mutante de la proteína p53 se acumula en el núcleo celular, donde puede detectarse por inmunohistoquímica.

En la década de los 90 aparecieron las primeras observaciones sobre la asociación de la expresión de p53 mutada con un intervalo libre de metástasis más corto ⁽²⁰⁵⁻²⁰⁶⁾.

El metanálisis de Pharoah y colaboradores concluyó que el valor pronóstico independiente de p53 debería ser validado en un estudio prospectivo con suficiente número de pacientes. Si bien la serie más larga publicada con más de 1700 enfermas, que analizaba las alteraciones de p53 por secuenciación, otorgaba a esta variable valor pronóstico independiente ⁽²⁰⁷⁾.

En una de las últimas revisiones sobre factores pronósticos que incluía varios estudios con largas supervivientes desde 1995 hasta 2006, se relacionó la mutación de p53 con un perfil pronóstico. Sin embargo su valor independiente se perdía en el análisis multivariante por corrección con otros factores de mayor potencia, como tamaño tumoral, afectación ganglionar, grado histológico y otros ⁽¹⁰¹⁾.

Finalmente, en un artículo sobre la expresión de p53 mutada como indicador pronóstico en cáncer de mama sin afectación ganglionar, estratificando por subtipos tumorales y teniendo en cuenta los subgrupos pronósticos de riesgo establecidos en el Consenso de Saint Gallen ⁽²⁾, se confirma su potencia independiente, junto a la negatividad de la expresión de receptor de progesterona, en el análisis multivariante. En el subanálisis por subtipos tumorales intrínsecos (Luminal A, Luminal B, ErbB2 y Triple negativo ^(4, 195-196, 199, 202) y grupos de riesgo del Consenso de Saint Gallen, hubo

diferencias significativas en supervivencia libre de enfermedad a los cinco años según el nivel de p53 ⁽²⁰⁸⁾.

1.3.2.3. Catepsina D

La catepsina D es una enzima lisosomal proteolítica producida y secretada por las células cancerosas mamarias. Se considera un marcador de invasividad. Su sobreexpresión parece estar asociada a una conducta tumoral agresiva y un intervalo libre de enfermedad acortado en algunos artículos científicos ^(168, 209-211), pero esto no se ha podido confirmar en otros ⁽²¹²⁻²¹³⁾.

La relación de la catepsina D con la proteína Her2-neu (codificada por el gen c-erbB2) y con la amplificación del oncogen c-myc fue estudiada por Brouillet y colaboradores ⁽²¹⁴⁾. Determinaron que la catepsina D no se correlaciona con la expresión del oncogen c-erbB2, pero sí con la amplificación del oncogen c-myc. La expresión de c-myc está generalmente relacionada con la proliferación celular, resultando que las pacientes en las que el ADN del tumor muestra un c-myc amplificado tienen un período de supervivencia acortado ⁽²¹⁵⁻²¹⁶⁾.

A día de hoy no está establecido rutinariamente su análisis y significado ^(168, 204).

1.3.2.4. Ciclina E

La ciclina E regula la transición entre las fases G1 y S del ciclo celular y se expresa constitutivamente en el 30% de los cánceres de mama. Un estudio retrospectivo inicial demostró un efecto desfavorable en el análisis univariante, que se perdía en el multivariante ⁽²¹⁷⁾.

Otro estudio posterior con más pacientes, en diferentes estadios de la enfermedad y casi todas tratadas con quimioterapia (QT), sugirió que pudiera relacionarse con una peor evolución ⁽²¹⁸⁾.

En un metanálisis de más de 2500 mujeres, la expresión de ciclina E se asoció con mayor riesgo de recurrencia, confirmándose como factor independiente de supervivencia global en el análisis multivariante ⁽²¹⁹⁾.

En el ensayo clínico SWOG 9313, en pacientes que recibieron quimioterapia con antraciclinas, se evaluó por inmunohistoquímica esta variable, pero no se asoció con un peor pronóstico ⁽²²⁰⁾.

Este marcador todavía presenta dificultades metodológicas para su determinación y tampoco se incluye en las recomendaciones de ASCO de 2007 para la utilización de marcadores tumorales ⁽²⁰⁴⁾.

1.3.2.5. Activador de Plasminógeno Urokinasa (uPA)

El activador de plasminógeno de tipo urokinasa (uPA) y su inhibidor (PAI-1) son dos marcadores de invasión tumoral que se han asociado con peor supervivencia libre de enfermedad y peor supervivencia global en mujeres con cáncer de mama sin afectación axilar ⁽²²¹⁾.

Los resultados de estudios individuales han sido validados por un gran estudio multicéntrico retrospectivo que analizó los datos de 8377 pacientes ⁽²²²⁾. Los niveles de uPA /PAI-1 fueron las variables pronósticas más potentes con nivel I de evidencia.

Janicke estratificó 556 pacientes con cáncer de mama sin afectación ganglionar, de acuerdo con los niveles de uPA /PAI-1, sometiendo a observación a las que presentaban valores bajos, mientras que aleatorizaba a observación o a esquema CMF (Ciclofosfamida, Metotrexate y 5-FU) a las que los tenían altos ⁽²²³⁾. La tasa de recaídas fue significativamente mayor en el grupo con niveles altos.

En otro reciente estudio retrospectivo francés, con 169 mujeres sin afectación ganglionar seguidas durante siete años, se vio que el 57 % presentaban niveles altos de uPA /PAI-1. Se encontró correlación de este parámetro con la supervivencia libre de recaída y la recaída a distancia, pero no con la recaída loco-regional ⁽²²⁴⁾.

Aunque se reconoce su importancia, la gran limitación de este marcador es la necesidad de disponer de una sustancial cantidad de tejido congelado para realizar su

determinación, pues a día de hoy todavía no disponemos de técnicas inmunohistoquímicas para su evaluación ⁽²²⁵⁾.

Según las recomendaciones de ASCO de 2007 sobre marcadores tumorales, se señala su valor pronóstico en pacientes recién diagnosticadas sin afectación ganglionar, si bien su valor predictivo de respuesta a quimioterapia u hormonoterapia merece mayor investigación ⁽²⁰⁴⁾.

1.3.2.6. Células tumorales circulantes de cáncer de mama

Datos obtenidos de diferentes estudios apoyan la afirmación de que la diseminación hematológica de las células de cáncer de mama ocurre independientemente de la diseminación linfática. Sin embargo en la práctica clínica no se evalúan de rutina las células tumorales circulantes (CTC).

La presencia de CTC detectadas mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR) conferirían peor pronóstico en pacientes con cáncer de mama metastásico ⁽²²⁶⁻²²⁷⁾. Serían de gran utilidad para la estratificación del riesgo y la monitorización temprana de la respuesta al tratamiento ⁽²²⁸⁾.

En cambio en pacientes con cáncer de mama precoz su significado es desconocido. En un estudio del MD Anderson Cancer Center, con casi 100 pacientes con tumores T1 y T2, se detectaron células tumorales circulantes en el 31%, pero no

hubo correlación con el tamaño tumoral ni con la afectación ganglionar o el grado histológico, ni con la expresión de receptores hormonales ni de Her2-neu ⁽²²⁹⁾.

1.3.2.7. Micrometástasis en médula ósea

No está absolutamente claro si la presencia de micrometástasis en médula ósea se correlaciona con el desarrollo de posteriores metástasis evidentes en hueso y con un peor pronóstico ⁽²³⁰⁾.

Basándose en diferentes estudios hay autores que la definen como un predictor independiente de mal pronóstico ⁽²³¹⁻²³⁴⁾. Sin embargo todos reconocen la heterogeneidad en el diagnóstico y la necesidad de estudios prospectivos para evaluar si la erradicación de las micrometástasis en esta localización se correlaciona con una mayor supervivencia libre de recaída y supervivencia global ⁽²³⁵⁾.

Al no ser objeto de nuestro estudio la enfermedad metastásica, ni estar establecida rutinariamente la realización y significado de micrometástasis en médula ósea en cáncer de mama precoz, ni la medición de uPA / PAI-1, Ciclina E o Catepsina D, no haremos más referencia a estas variables.

1.4. FACTORES PRONÓSTICOS CON CAPACIDAD PREDICTIVA

Recordemos que un “factor predictivo de respuesta” se define como una variable clínica, histológica, biológica o, más frecuentemente, molecular que predice la respuesta a un determinado tratamiento. Proporciona información acerca de la probabilidad de respuesta a una modalidad terapéutica determinada. En la práctica clínica, y al menos en teoría, los factores predictivos ayudan a seleccionar el procedimiento terapéutico más adecuado para cada neoplasia y cada paciente, es decir, “ayudan a elegir con qué tratar” ⁽⁵⁷⁾.

Actualmente en el cáncer de mama disponemos de los receptores hormonales de estrógeno y progesterona y de la proteína Her2-neu (o del oncogen c-erbB2) como factores predictivos de respuesta. Ambos se determinan en la inmunohistoquímica rutinaria cuando se estudia la pieza tumoral.

Cuando se expresan, nos permiten el tratamiento hormonal con antiestrógenos (cuyo paradigma es el Tamoxifeno) ⁽¹⁷³⁾, análogos de la hormona liberadora de Gonadotropinas (LHRH), y/o Inhibidores de la Aromatasa en el primer caso ⁽²³⁶⁾ y con Trastuzumab (Herceptin), un anticuerpo monoclonal, en el segundo ⁽²³⁷⁾.

1.4.1. RECEPTORES HORMONALES

La determinación de receptores estrogénicos (RE) y de progesterona (RP) en las biopsias de carcinomas infiltrantes es una práctica habitual en la evaluación de pacientes con cáncer de mama. La utilidad clínica de los receptores hormonales fue sospechada ya en los años 70 ⁽²³⁸⁻²³⁹⁾. Posteriormente, fue confirmada su correlación con el grado tumoral ⁽²⁴⁰⁾.

Se observó que, aproximadamente entre el 55-65% de los cánceres de mama y el 45-55% de sus metástasis expresan receptores estrogénicos positivos (RE) y entre el 55-60% responden a la administración de terapia hormonal ⁽²⁴¹⁾. Asimismo, los tumores mejor diferenciados se presentan con mayor frecuencia de receptores de estrógeno y tienen un pronóstico relativamente mejor ⁽²⁴²⁾. Sin embargo, en algún estudio se ha visto respuesta a Tamoxifeno con una baja o imperceptible expresión de receptor de estrógeno (RE) ⁽²⁴³⁻²⁴⁴⁾.

Entre el 45-60% de los cánceres de mama precoces y metastásicos contienen receptores de progesterona (RP). Clásicamente se ha considerado que la presencia conjunta de receptores de estrógeno y progesterona (RE y RP) en el mismo tumor aumenta la probabilidad de respuesta a la hormonoterapia, desde un 55%, observada en pacientes con sólo expresión del receptor de estrógeno, a un 75-80% ⁽²³⁹⁾. Aunque no se encontró ningún valor predictivo para el receptor de progesterona en el metanálisis de Oxford (quizá debido a errores en su evaluación)⁽²⁴⁵⁾, se consideran al

menos tan importantes como los receptores de estrógeno para predecir la respuesta del cáncer de mama y la pérdida de receptor de progesterona por las células tumorales está asociada con peor pronóstico ⁽²⁴⁶⁾. Incluso parece que la falta de expresión de RP en un tumor pudiera asociarse a alta expresión de Her2-neu y EGFR y, por tanto, con un comportamiento biológico más agresivo ⁽²⁴¹⁾. Al igual que en modelos de laboratorio, la falta de expresión de receptores de progesterona en los tumores con receptor de estrógeno pudiera ser un marcador indirecto de factores de crecimiento aberrantes de señalización intracelular (como hiperactividad de receptores de IGF-IR, EGFR y Her-2) que podrían contribuir a la resistencia a Tamoxifeno observada ^(241, 247). En un análisis retrospectivo, no definido con anterioridad, del estudio ATAC ⁽²⁴⁸⁾, se ha sugerido que la ventaja de Anastrozol sobre Tamoxifeno parece más clara para aquellas pacientes con negatividad de receptores de progesterona con respecto a las que tienen ambos receptores positivos ⁽²⁴⁹⁾.

Aunque la presencia de receptores de estrógeno y de progesterona en el tumor parece favorable de cara a la supervivencia ^(93, 117), su valor pronóstico es difícil de valorar en ausencia de terapia hormonal ⁽²⁵⁰⁻²⁵¹⁾. En cualquier caso, este valor pronóstico parece perderse con el tiempo y es posible que la presencia de receptores de estrógeno y de progesterona únicamente refleje una evolución más indolente con un mayor tiempo a la recurrencia de forma natural ^(101, 252).

También se ha destacado una fuerte correlación directa entre el grado histológico y la expresión de receptores hormonales ^(240, 242, 253-254). Por el contrario, se

ha asociado inversamente la expresión de receptores de estrógeno y de progesterona con marcadores de proliferación celular como Ki-67⁽²⁵⁵⁻²⁵⁶⁾.

En la actualidad, la determinación de receptores de estrógeno y progesterona es imprescindible por su indiscutible preponderancia a la hora de tomar decisiones terapéuticas. En cuanto a la forma de determinarlos, no queda totalmente claro cuál es el mejor método⁽²⁵⁷⁻²⁵⁸⁾. Debido a la subjetividad en la interpretación de los resultados, los diferentes puntos de corte usados para definir su positividad y la diferente sensibilidad y especificidad de los anticuerpos empleados, es muy difícil comparar resultados de diferentes estudios, sobre todo de los más antiguos⁽²⁵⁹⁻²⁶¹⁾.

A día de hoy las técnicas inmunohistoquímicas son las más utilizadas en nuestros hospitales, a raíz de que progresivas publicaciones hayan avalado su sensibilidad, especificidad y reproducibilidad⁽²⁶²⁻²⁶³⁾. La Sociedad Americana de Oncología (ASCO) también ha realizado sus recomendaciones sobre dicha evaluación en este último año⁽²⁶⁴⁾. Su determinación está universalmente aceptada en la práctica clínica⁽²⁰⁴⁾.

Sobre lo que no hay discusión es sobre su capacidad de predicción de respuesta a la terapia hormonal. En el metanálisis de Oxford se observó una reducción del riesgo de muerte del 30% en mujeres con expresión de receptores de estrógeno y de progesterona tratadas con Tamoxifeno, independientemente de la edad de la paciente, del valor de los receptores hormonales o de la exposición previa a

quimioterapia ^(173, 245). Sin embargo, no responden a Tamoxifeno el 100% de las mujeres cuyo cáncer de mama expresa receptores hormonales, ni tampoco la respuesta se mantiene en el tiempo permanentemente en todas las respondedoras.

La reducción de los niveles de receptor estrogénico, la negatividad o baja expresión de receptor de progesterona y la positividad del receptor Her-2 se asocian con una menor probabilidad de respuesta a cualquier tipo de terapia endocrina ⁽²⁶⁵⁻²⁶⁷⁾. Los tumores que sobreexpresan Her2-neu/c-erbB2 son resistentes al tratamiento hormonal y requieren el bloqueo de la vía de Her-2, además de la deprivación estrogénica ⁽²⁶⁸⁻²⁷⁰⁾.

Estudios moleculares recientes han demostrado que la capacidad de respuesta endocrina está influenciada en gran medida por los receptores interrelacionados con las vías estrogénicas intracelulares ^(268, 271-272) (Figura 5).

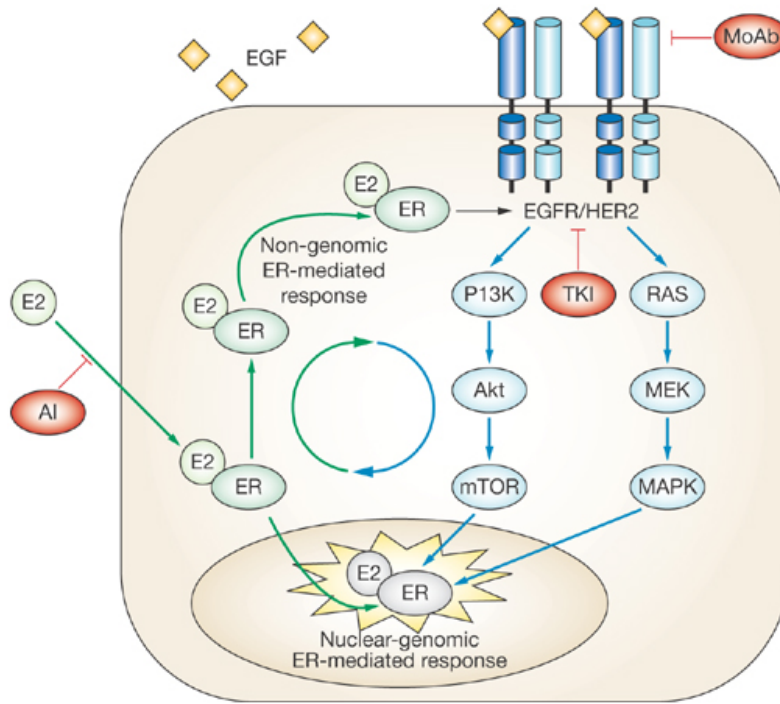


Figura 5. Relación del receptor estrogénico con otras vías de señalización celular (271)

El “crosstalk” o diálogo cruzado entre el receptor Her-2 y el receptor de estrógeno se ha puesto de manifiesto en diferentes publicaciones ^(268, 270, 273-274). La interacción entre ambos podría explicar la resistencia a Tamoxifeno ⁽²⁷⁵⁾ y el beneficio de los inhibidores de la aromatasa o de la adición de Trastuzumab al tratamiento hormonal en algunas pacientes hormonosensibles ^(236, 265, 276-278).

1.4.2. EXPRESIÓN DEL ONCOGEN c-Erb-B2 (proteína HER-2neu o receptor Her-2)

El oncogen c-erbB2 se encuentra en el cromosoma 17, pertenece a la familia del factor de crecimiento humano (EGFR) y codifica una proteína-receptor tirosín-quinasa transmembrana de 185 kD (Her2-neu). Está amplificado entre el 15-25% de los cánceres de mama y está asociado a una enfermedad más agresiva y a corta supervivencia ⁽²⁷⁹⁻²⁸⁰⁾. Los tumores que lo expresan suelen tener más probablemente anomalías en p53, no presentar receptores hormonales, tener alto índice mitótico, afectación ganglionar e infiltración linfoide y otros conocidos marcadores de mal pronóstico ⁽²⁸¹⁻²⁸³⁾.

En la reciente clasificación molecular del cáncer de mama, el estatus Her-2 positivo no constituye una única categoría molecular, ya que se identifica en el subtipo ErbB2 y en el Luminal B ⁽¹⁹⁵⁾.

Se considera que está sobreexpresado si se observa positividad de 3 cruces (3+) en la determinación por inmunohistoquímica de la expresión de la proteína Her2-neu en las células tumorales o, en casos de menor positividad (2+), si la hibridación in situ fluorescente (FISH) es positiva, es decir, si se observan amplificación de las copias del gen c-erbB2 en las células tumorales. Se han utilizado en su medición tanto técnicas morfológicas como la técnica inmunohistoquímica en las muestras de tejido tumoral mamario ⁽²⁸⁴⁾. La hibridación in situ cromogénica (CISH) es el método más moderno

utilizado para su determinación ⁽²⁸⁵⁾ y se ha validado comparativamente con FISH e inmunohistoquímica ⁽²⁸⁶⁻²⁸⁷⁾. Para establecer uniformidad en su evaluación y garantizar su reproducibilidad se han establecido Guías y Recomendaciones, tanto por la Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO) como por la Sociedad Española de Patología (SEAP)⁽²⁸⁸⁻²⁸⁹⁾.

La determinación del Her2-neu sérico parecía deparar resultados prometedores al poder medir en sangre p95, es decir, el dominio extracelular de la proteína Her2-neu (ECD) que se liberaba al torrente sanguíneo una vez que la proteína se degradaba ⁽²⁹⁰⁾. Con su control se pretendía monitorizar la respuesta a Trastuzumab en cáncer de mama metastásico y detectar una progresión precoz de la enfermedad al observarse incremento de sus niveles ⁽²⁹¹⁻²⁹²⁾. Finalmente, en un estudio prospectivo, no se encontró una clara relación entre los niveles basales de Her2-neu-ECD y la respuesta tumoral. Tras iniciar tratamiento combinado con Trastuzumab y quimioterapia, los niveles de Her2-neu-ECD disminuyeron independientemente de la terapia recibida y de la respuesta tumoral. Tampoco la elevación de Her2-neu-ECD servía para predecir con seguridad la progresión de la enfermedad. Los autores concluían que no podían aconsejar la monitorización de Her2-neu-ECD para valorar la respuesta terapéutica ⁽²⁹³⁾.

En los primeros estudios se veía que pacientes con afectación ganglionar, con amplificación de este oncogen o expresión de la proteína codificada por él, tenían una menor supervivencia a los 10 años con respecto a los que no lo amplificaban ^(281, 294).

Después de 10 años la diferencia persistía, aunque se hacía más pequeña ^(101, 281). En enfermas con ganglios negativos no parecía tan marcada la afectación de la supervivencia ^(250, 281-282, 295).

En publicaciones más modernas se confirma la relación de c-erb-B2 con la recaída en pacientes, con o sin afectación ganglionar ^(285, 296-297).

En una reciente revisión de 107 estudios, con casi 40 000 enfermas, se observó que en el 88% de ellos, en el que se apreciaba amplificación del oncogen c-erbB2 y/o expresión de la proteína Her2-neu, resultaba predictor de mala evolución en el análisis univariante y multivariante. En el 93% de estos estudios era, incluso, un factor pronóstico adverso independiente. Únicamente en un 12% de los mismos no se encontró esta correlación pronóstica ⁽²⁸⁵⁾.

Además de predecir la respuesta a Trastuzumab en enfermedad metastásica ⁽²⁷⁹⁾ y en adyuvancia ⁽²⁹⁸⁻³⁰¹⁾ y a Lapatinib ⁽³⁰²⁾, podemos considerar que pudiera predecir parcialmente la respuesta a regímenes de quimioterapia que contengan Antraciclinas ^(294, 303-305) y presentar cierta resistencia al tratamiento con Tamoxifeno en pacientes hormonosensibles ^(269-270, 274, 306-307).

La proximidad entre el receptor Her-2 y el de la Topoisomerasa II ha llevado a postular que la amplificación del gen de la Topoisomerasa, en pacientes con expresión de Her2-neu, sería el responsable de la sensibilidad a las Antraciclinas, pudiendo

utilizarse como biomarcador ⁽³⁰⁸⁻³¹⁰⁾. Sin embargo este punto debería validarse en estudios prospectivos.

En conclusión, desde los años 80 hasta hoy, varios estudios han acreditado tanto su valor pronóstico como predictivo ^(284, 287, 303, 311-312) y, su determinación está universalmente aceptada en la práctica clínica, reconociéndose imprescindible para la aproximación terapéutica ^(204, 313).

Otro punto de extraordinario interés es la discordancia en la expresión de c-erbB2 o Her2-neu entre el tumor primario y la metástasis ⁽²⁷⁹⁾. Ya en 1997 se observó una discrepancia del 31% en la expresión de receptores de estrógeno, de progesterona y de Her2-neu, entre tumor primario y metástasis ⁽³¹⁴⁾. Diferentes publicaciones han observado esta diferencia en diversa proporción, recomendando la realización de biopsia en la localización metastásica, siempre que sea factible ⁽³¹⁵⁻³¹⁹⁾.

1.5. FACTORES PRONÓSTICOS MOLECULARES

La revisión del metanálisis de Oxford confirma que se ha avanzado en la curación del cáncer de mama añadiendo tratamiento complementario con quimioterapia y Tamoxifeno a la cirugía. Sin embargo, las curvas de recaída de la enfermedad se han modificado en mucha menor medida⁽¹⁷³⁾.

Hasta la fecha, se ha realizado la elección de tratamiento adyuvante en función del riesgo de recaída que presumíamos para cada paciente⁽⁶⁹⁾. Utilizábamos para ello los factores pronósticos clásicos, como tamaño tumoral, afectación ganglionar, grado y tipo histológico, invasión vascular linfática⁽¹⁰¹⁾ y el valor pronóstico añadido de los factores predictivos como expresión de receptores de estrógeno, de progesterona^(238, 240, 253, 261) y expresión de c-erbB2 o Her2-neu⁽²⁸⁵⁾.

Sabemos por estudios retrospectivos que algunas pacientes con tumores subcentimétricos recaen, incluso sin afectación axilar, algunas con expresión de receptores de estrógeno y de progesterona se benefician también de tratamiento con quimioterapia y, por el contrario, otras que lo reciben probablemente no se benefician o el balance beneficio-riesgo (efectos secundarios) sea escaso. Es decir, hablamos de una enfermedad con una gran heterogeneidad clínica y biológica⁽²⁾.

Se hace entonces necesaria la investigación de otros parámetros que nos ayuden a predecir con más exactitud el riesgo de recaída y de muerte en cáncer de mama. En la búsqueda de mejores factores pronósticos, lo ideal sería que pudieran ser considerados también como un potencial predictor de respuesta, lo que permitiría asimismo un mayor avance en el abordaje terapéutico ⁽¹⁰⁵⁾.

Puesto que tumores semejantes y homogéneos en cuanto a sus factores pronósticos clásicos se comportan de forma distinta en su evolución, cabe suponer que la diferencia entre ellos se establece a nivel molecular, al expresar distintos genes que les otorgarían diferente comportamiento biológico y distinta sensibilidad a los tratamientos. Basándose en este razonamiento, se han investigado patrones de expresión de cientos de genes en series de cáncer de mama utilizando la técnica de "microarrays" de ADN, que han permitido obtener un "retrato molecular" de cada tumor y un agrupamiento de los mismos en diversas categorías en base a sus perfiles de expresión génica ^(4, 195-196, 199, 201-202). Varios estudios publicados demuestran que la clasificación resultante con esta tecnología define grupos de tumores diferentes en cuanto a su pronóstico y con distintas probabilidades de respuesta a los diferentes tratamientos ^(77, 194, 320-325).

1.5.1. SUBTIPOS MOLECULARES INTRÍNSECOS

Los primeros estudios sobre el heterogéneo perfil genético, molecular y clínico del cáncer de mama se lo debemos a dos patólogos: Charles Perou (Universidad de Stanford-California) ⁽¹⁹⁵⁻¹⁹⁶⁾ y Therese Sorlie (Hospital Montebello-Oslo) ^(195-196, 199).

En su primera publicación caracterizaron conjuntamente la variación en el perfil de expresión génica de 65 muestras quirúrgicas de cáncer de mama de 42 individuos (36 carcinomas ductales infiltrantes, 2 carcinomas lobulillares, 1 carcinoma ductal in situ, 1 fibroadenoma y 3 muestras de tejido mamario normal) analizando 8102 genes ⁽¹⁹⁵⁾. De 20 de estos tumores se obtuvieron 2 muestras, antes y después del tratamiento quimioterápico neoadyuvante con Doxorrubicina. En 2 casos se analizaron muestras del tumor primario y de adenopatías axilares metastásicas de la misma paciente.

Utilizando técnicas de microarrays de DNA descubrieron distintos patrones de expresión génica que asimilaron a diferentes subtipos tumorales con diferente pronóstico. Variaciones en el crecimiento celular, en la actividad específica de vías de señalización intracelular y en la composición celular de los tumores se reflejaban en correspondientes variaciones en la expresión de diferentes grupos de genes. Se desarrolló entonces un sistema que permitía clasificar a los tumores en cuatro grupos: Luminal, Basal-like, Erb-B2 y Normal-like. Este diferente perfil genético persistía en el

tumor primario, antes y después del tratamiento quimioterápico neoadyuvante, y en las metástasis ganglionares del mismo ^(195, 326).

El subtipo tumoral Luminal era caracterizado por la alta expresión de receptores hormonales y de genes expresados por las células luminales epiteliales mamarias. Se podía distinguir por inmunohistoquímica usando anticuerpos frente a las citoqueratinas 8 y 18 (CK 8/18) que presentan estas células luminales.

La ausencia o baja expresión de receptores hormonales se reconocía en los subtipos tumorales Basal-like, Erb-B2 y Normal-like. En el primero se observaba tinción de las células basales epiteliales mamarias mediante inmunohistoquímica frente a citoqueratinas 5 y 6 ó 17 (CK 5/6 y 17). En el segundo, alta expresión del oncogen c-erbB2.

Un año más tarde, en su segunda publicación conjunta, Perou y Sorlie analizaron 78 muestras de cáncer de mama (71 carcinomas ductales, 5 lobulillares y 2 carcinomas in situ obtenidos de 77 individuos), de 3 fibroadenomas y 4 muestras de tejido mamario normal (éstas comprendían 40 de los tumores incluidos en su publicación anterior) ⁽¹⁹⁶⁾.

Los nuevos hallazgos aportados eran: el descubrimiento en el grupo Luminal de, al menos dos tipos moleculares, Luminal A y Luminal B (se diferenciaban en la proporción de expresión de receptores hormonales y de otros genes de proliferación celular), la variable expresión de mutaciones de p53 (muy baja en Luminal A y muy alta

en Basal-like y Erb-B2) y la correlación pronóstica con cada subtipo tumoral (mayor supervivencia libre de enfermedad y global en Luminal A y menor en Erb-B2).

En 2003 de nuevo confirmaron su observación sobre la existencia de diferentes subtipos en una muestra más amplia (añadiendo 38 cánceres de mama más) en la que incluyeron un grupo de tumores con mutación del gen BRCA-1. Encontraron que este genotipo BRCA-1 se asociaba fuertemente al subtipo basal-like. Se mantenían también las diferencias en supervivencia descritas previamente ⁽¹⁹⁹⁾.

Se validó este modelo de perfil genético en el estudio de van't Veer ⁽¹⁹⁸⁾ permitiendo realizar igualmente la discriminación en los distintos subtipos descritos aún con clusters (agrupaciones) de genes diferentes (Figura 6).

Sotiriou, con muestras de 99 cánceres de mama, determinó con otro grupo de genes diferentes la asociación de éstos con los mismos subtipos tumorales descritos, anteriormente y su relación directa con la supervivencia global y la supervivencia libre de progresión.

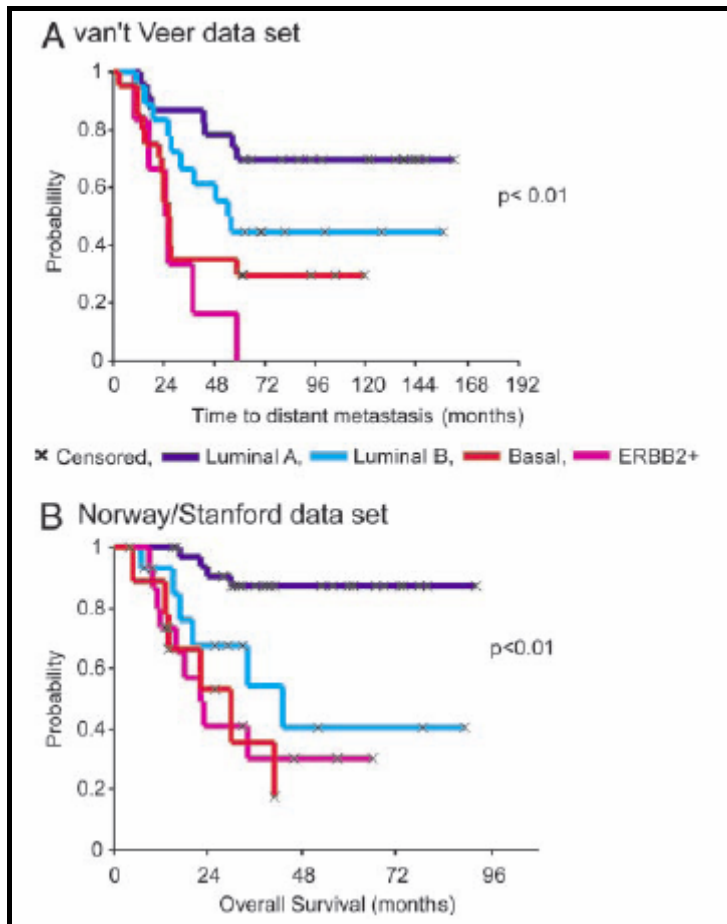


Figura 6. Subtipos Tumorales definidos por Sorlie y Perou y comparación con la plataforma génica de van't Veer (198)

Sin embargo, a pesar de la importancia de los perfiles de expresión génica, su gran limitación además de la validación en estudios prospectivos en curso, es su aplicación masiva en la práctica clínica diaria debido a sus eventuales dificultades técnicas y a su alto coste económico.

En un esfuerzo por desarrollar una clasificación que sea clínicamente significativa, técnicamente simple, reproducible y ampliamente disponible, diferentes autores han estudiado clasificaciones moleculares basadas en técnicas inmunohistoquímicas y derivadas de datos de los perfiles genéticos, correlacionadas con el curso clínico de las pacientes y capaces de proporcionar información pronóstica y predictiva adicional.

Nielsen y colaboradores fueron los primeros en validar parámetros inmunohistoquímicos que fueran marcadores subrogados de las plataformas de microarrays de DNA ⁽³²⁷⁾, lo que permitió la caracterización inmunohistoquímica del subtipo molecular Basal-Like con una sensibilidad del 76% y una especificidad del 100%. Se definía este subtipo con negatividad en la tinción de receptores hormonales y Her2-neu y positividad en la de citoqueratinas 5 y 6 y/o EGFR (RE -, Her2-neu -, CK 5/6 + y/o EGFR +).

Abd El-Rehim estudió 1076 casos de cáncer de mama invasivo con 26 marcadores inmunohistoquímicos e identificó 6 clúster de tumores. Cinco de ellos se correspondían con los cinco subtipos tumorales moleculares descritos por Perou y Sorlie, el sexto constaba solo de 4 casos de cáncer de mama ⁽³²⁸⁾.

Livasy, utilizando 58 muestras de tejido tumoral estudiadas mediante análisis de microarrays (23 luminales, 23 basales y 12 Her-2 positivas), correlacionó este análisis con la representación inmunohistoquímica tumoral. Demostró que el subtipo

basal se correspondía con un perfil inmunohistoquímico similar al referido por Nielsen⁽³²⁹⁾.

Posteriormente el equipo de Carey en 2006 publicó en la revista JAMA un estudio, que incluía casi 500 mujeres con cáncer de mama, en el que manteniendo la clasificación inmunohistoquímica de Nielsen subdividía al grupo Luminal en A (RE +, Her-2 -) y B (RE +, Her-2 +). Esta clasificación fue validada en una muestra de 930 cánceres de mama de la universidad de Columbia estudiados mediante microarrays. Refería además que el subgrupo Luminal B era muy heterogéneo y que los tumores Luminal B que sobreexpresaban Her-2-Neu comprendían entre el 30-50% de ellos⁽³³⁰⁾.

Investigaciones posteriores tomaron como base esta división inmunohistoquímica para determinar subtipos tumorales moleculares y relacionarlos con el pronóstico, aunque no todas ellas diferencian los tumores Basal-Like dentro del subtipo Triple Negativo^(266, 330-336).

En 2009, tras una publicación de Sotiriou en New England Journal Medicine, se concretó más la descripción del subtipo Luminal B, pues definía dentro del grupo con expresión de receptores estrogénicos, un conjunto de genes de proliferación como Ki-67 con peor pronóstico, que podemos medir también mediante inmunohistoquímica⁽²⁰²⁾. Se delimitaban, por tanto, como Luminales B los tumores con expresión de receptores de estrógeno y una o dos de las siguientes condiciones: positividad de Her2-neu/c-erbB2 y/o Ki-67 elevado.

En los últimos dos años varios trabajos científicos divulgados ya recogen esta definición de Luminal B ^(194, 203, 337).

En resumen, la clasificación genética en subtipos intrínsecos ^(195-197, 199, 202) se continúa considerando como “patrón oro” dividiendo a los tumores según su comportamiento biológico y pronóstico en: Luminal A (LA), Luminal B (LB), ErbB2 y Triple negativo (TN). Éste último se puede subdividir en Basal y Normal (o no Basal-Like) según la expresión de EGFR y/o Citoqueratinas 5 y 6 (CK 5/6). La clasificación inmunohistoquímica se ha ido perfilando progresivamente por lo que diversos estudios, realizados a lo largo de los años, han utilizado definiciones variables en el subgrupo Luminal B y no han diferenciado a los tumores Triple Negativo de los Basal-Like. Esto justificaría que no todos los resultados de las diferentes publicaciones fueran reproducibles ni superponibles.

Caracterizamos clínicamente cada uno de estos subtipos tumorales:

1.5.1.1. Subtipo Luminal (A y B)

Es el más común. En el estudio de Blows, con más de 10000 pacientes, representan el 78%, siendo Luminales A el 92% y Luminales B el 8% ⁽³³⁸⁾. Kennecke, entre 3726 mujeres con cáncer de mama, reportó 44% Luminales A y 13.6% Luminales B ⁽³³⁹⁾. En ninguno de estos dos estudios se utiliza Ki-67 para diferenciar ambos subtipos luminales.

Clasificando según expresión de Her2-neu y Ki-67, Voduc encontró 44% de pacientes Luminales A y 30% de Luminales B en una cohorte de 2985 ⁽³³⁷⁾. El grupo de Cheang identificó, en 4046 enfermas, 2847 con fenotipo luminal (59% LA y 41% LB) ⁽²⁰³⁾. En el estudio de Hugh del BCIRG 001 con población seleccionada (afectación ganglionar axilar) se describieron 61.1 % Luminales B y 14% Luminales A ⁽¹⁹⁴⁾.

En otras publicaciones más antiguas, en las que tampoco se tiene en cuenta Ki-67 para diferenciar subtipos tumorales luminales, también se refiere preponderancia del subgrupo luminal frente a los demás en la frecuencia de presentación ^(266, 330-331, 335-336, 340).

Este subtipo tiene un patrón de expresión génica similar al epitelio luminal de la mama ⁽¹⁹⁵⁾. Se caracteriza por la expresión de receptores de estrógeno y de progesterona y de genes asociados a la activación de receptores de estrógeno como LIV1, TFF1/ pS2 y Ciclina D1, además de citoqueratinas luminales (CK 8/18) ^(195, 197).

Globalmente suelen presentar bajo grado de diferenciación y menos del 20% tienen mutaciones de p53, aunque estas características son referidas fundamentalmente a los Luminales A ⁽¹⁹⁶⁻¹⁹⁷⁾.

Los factores de riesgo y protectores tradicionales (como el embarazo a edad temprana) suelen acompañar a estas neoplasias y, se presentan sobre todo en pacientes postmenopáusicas de edad más avanzada ⁽²⁶⁶⁾. Por el contrario, en algunos

estudios se ha sugerido que en las pacientes jóvenes es más frecuente encontrar tumores Luminales B y Triple Negativos^(194, 266, 320, 330, 335, 341).

Con respecto a su relación con el tamaño tumoral o la afectación ganglionar es difícil extraer datos reproducibles, pues los diferentes estudios publicados adoptan diferentes clasificaciones, tanto en el subtipo Luminal como en el Triple Negativo. No obstante, en la mayoría parece haber una tendencia general a asociar el subtipo Luminal con tumores más pequeños y con menor afectación ganglionar^(338, 342). Sin embargo en la publicación de Hugh, sólo cáncer de mama con ganglios positivos, no se evidenciaba diferencia en la proporción de presentación entre subtipos⁽¹⁹⁴⁾.

También es el paradigma de tumor con recaída tardía (se ha visto que la recurrencia tras 10 años es más frecuente en las pacientes con expresión de receptor estrogénico)⁽³⁴³⁾ y de apetencia por desarrollar metástasis en hueso más que en otras localizaciones^(339, 344). En alguna investigación se describe igualmente menor frecuencia de recaída loco-regional⁽³³⁶⁻³³⁷⁾. Sobre lo que no existe duda, ya desde los primeros trabajos, es sobre su mejor pronóstico^(197, 199, 330, 336-338, 340) que se confirma en los aparecidos últimamente⁽³³⁶⁻³³⁸⁾.

Como ya hemos dicho, dentro de este grupo se encuentran al menos dos subtipos: Luminal A (LA) y B (LB); a veces no fáciles de distinguir desde el punto de vista genético, pues son un “continuum”. Los Luminales A generalmente tienen alta expresión de receptor de estrógeno y de genes que regulan su expresión, muy baja o

ausencia de expresión de c-erbB2 y, baja expresión de genes de proliferación, incluyendo Ki-67^(196, 199). Representan el 40% de los cánceres de mama^(330, 345). Según Jung los carcinomas lobulillares invasivos serían el prototipo de este subtipo molecular⁽¹⁵⁰⁾.

Por el contrario los tumores Luminales B tienden a ser de alta proliferación (alta expresión de Ki-67), suelen tener p53 mutada y, en general baja expresión de receptor de estrógeno y de genes relacionados con su expresión⁽²⁰²⁾. Representan en torno al 10% de los cánceres de mama luminales^(330, 345).

Recientemente Sotiriou, mediante variables clínico-patológicas del tumor, inmunohistoquímica y perfiles de expresión génica, estableció esta diferenciación entre subtipos Luminal A y B en función del nivel de Ki-67⁽²⁰²⁾.

Incluso en el test genético Oncotype Dx se incluyen genes como c-erbB2, Ki-67, Bcl-2 y otros marcadores de proliferación que permiten diferenciar tumores Luminal A y Luminal B⁽²⁰⁰⁾.

Con respecto a la supervivencia, Fan, en el estudio de concordancia entre diferentes modelos pronósticos genéticos, encontró que el 50% de los tumores Luminales A presentaban un bajo "recurrence score" (riesgo de recaída), mientras que en los Luminales B sólo el 2% de ellos⁽³⁴⁶⁾. Estos últimos tienen alto riesgo de recaída a pesar del tratamiento con Tamoxifeno y se benefician de quimioterapia adyuvante^(174, 194, 325).

Esta observación se confirmó en otro trabajo científico en el cual se medían receptores de estrógeno (RE), receptores de progesterona (RP), expresión de Her2-neu y Ki-67 por inmunohistoquímica, distinguiendo subtipos Luminal A y Luminal B. Se relacionaba al subtipo Luminal B con peor supervivencia libre de recaída y peor supervivencia específica por cáncer de mama, a pesar de recibir tratamiento complementario. En particular, en las mujeres que sólo habían recibido Tamoxifeno, existía una diferencia de alrededor del 20% en la supervivencia específica por cáncer de mama a los 10 años entre subtipos luminales ⁽²⁰³⁾.

En el estudio francés PACS 01 ⁽¹⁹¹⁾ se estudió la respuesta a Docetaxel y a Antraciclinas en relación a los niveles de expresión de Ki-67 en pacientes con receptores estrogénicos positivos, concluyendo que el subgrupo con elevación de Ki-67 presentaba mejor respuesta al taxano que al régimen con antraciclinas ⁽¹⁹²⁾. También en el estudio BCIRG 001 ⁽¹⁹³⁾ se observa un beneficio en supervivencia libre de enfermedad a los tres años añadiendo Docetaxel en las enfermas hormonosensibles, pero únicamente en aquellas con un Ki-67 alto ⁽¹⁹⁴⁾.

1.5.1.2. Subtipo ErbB2

Es relativamente infrecuente. En el estudio de Carey supone el 10% del global ⁽³³⁰⁾, en el de Blows el 6% ⁽³³⁸⁾, presentando un alto porcentaje en la publicación de Del Casar (21%) ⁽³⁴⁰⁾.

Expresan c-erbB2 y otros genes próximos a c-erbB2 en el genoma, como GRB7. No todos los tumores con expresión de este gen o de la proteína Her2-neu detectada por inmunohistoquímica pertenecen a este subtipo. También los tumores Luminales B lo expresan ⁽³³⁰⁾.

Muestran baja expresión de genes luminales y, por tanto de CK 8 y 18, de genes reguladores de la expresión de receptores de estrógeno y de genes basal-like ⁽⁴⁾. Presentan altos niveles de expresión de activadores de la transcripción como GATA4 ⁽³⁴⁷⁾.

El 75% de los tumores presentan alto grado de diferenciación y más del 40% mutaciones de p53 ^(266, 330-331). Desde su denominación todos los estudios han confirmado repetidamente su mal pronóstico y su agresividad biológica ^(196, 199, 201, 266, 320, 330-331).

Sin embargo, gracias al demostrado beneficio de las terapias anti-Her-2 su pronóstico ha mejorado ^(298-299, 302, 348), aunque haya enfermas que presentan resistencia “de novo” o adquirida ⁽³⁴⁹⁻³⁵²⁾. Muestran además alta sensibilidad a quimioterapia neoadyuvante basada en antraciclinas y taxanos, encontrando mayores tasas de respuesta patológica completa que los subtipos luminales ^(321, 332, 353).

No se han descrito factores de riesgo específicos para este subtipo y no hay interacción aparente entre la edad o la raza, pero sí una disminución de la

supervivencia libre de recaída y de supervivencia global con respecto a los tumores luminales ^(194, 330-331, 336-338, 345). En tres estudios se advierte una agregación con un tamaño tumoral mayor ^(266, 331, 338) y en dos de ellos ^(331, 338) mayor porcentaje de afectación ganglionar que en los otros subtipos.

Se ha observado también mayor riesgo de diseminación en SNC con respecto a los subtipos luminales y Triple Negativo ⁽³⁵⁴⁻³⁵⁶⁾ y mayor proporción de recaídas viscerales y loco-regionales que los luminales ⁽³³⁶⁻³³⁷⁾.

1.5.1.3. Subtipo Triple Negativo (TN) y/o Basal (o Basal-Like) (BL)

Este es un campo de investigación ingente en la actualidad. La variabilidad biológica y clínica de los tumores Triple Negativo unida a la falta de un agente diana que los diferencia de los otros subtipos, genera una gran búsqueda de datos e información sobre este tema ⁽³⁵⁷⁾.

Inicialmente debemos diferenciar ambos términos: Triple Negativo y Basal-Like. Aunque frecuentemente se han utilizado como sinónimos presentan alrededor de un 20% de discordancia. Definimos como Triple Negativos a los tumores que no expresan receptores de estrógeno ni de progesterona, ni de Her2-neu o c-erbB2. Definimos como Basal-Like a los tumores Triple Negativo que además expresan CK 5/6 y/ o EGFR ^(327, 341, 358-360), suponen alrededor del 80% de los Triple Negativos ⁽³⁶¹⁾.

Las neoplasias que no expresan ninguno de los cinco marcadores se denominan “Normal-Like” o no Basal-Like y parecen ser discretamente menos agresivas que las Basal-Like ^(341, 359, 362).

Los tumores Normal-Like se parecen citológicamente al tejido normal de la mama, con alta expresión de genes característicos de las células adiposas, mioepiteliales y de otras células no epiteliales ⁽³⁶²⁾.

Los tumores Basal-Like expresan un patrón semejante al de las células epiteliales basales con citoqueratinas basales de alto peso molecular como CK 5/6, 14 y 17, y EGFR, c-kit, vimentina, P-cadherina, fascina, caveolinas 1 y 2, y p63. Se ha observado un incremento de la actividad mitótica con alta expresión de Ki-67, mutaciones de p53 (hasta en el 50% de los casos), marcado pleomorfismo nuclear y atipia, alto grado nuclear ^(266, 331, 334), necrosis central, múltiples células en apoptosis e infiltración linfocítica estromal ^(4, 199, 332). Se ha evidenciado también la falta de función de la proteína RB1, la cual es crítica en la regulación del ciclo celular. Estas células son deficitarias en actividad de RB (gen del retinoblastoma) y p53, por lo que tienden a un crecimiento rápido al no funcionar el mecanismo de supresión tumoral ⁽³⁶¹⁾.

Se ha encontrado asociación de este subtipo con mutaciones de BRCA 1 ^(81, 199, 345, 356). Específicamente en mujeres portadoras de la mutación que desarrollan un cáncer de mama, hasta en el 80% de los casos es Basal-Like ^(361, 363). La asociación con la

vía BRCA tiene importantes implicaciones terapéuticas con la introducción de los inhibidores de la PARP (Polimerasa ADP-Ribosa). Éstos impiden la reparación de la vía alterada en las células deficientes de BRCA, produciendo un efecto sintético letal en las células alteradas ⁽³⁶⁴⁻³⁶⁵⁾.

Los investigadores básicos creen que la asociación de la pérdida genética de TP53, de RB y la mutación de BRCA es responsable del alto porcentaje de aneuploidía observado en estas neoplasias, incluyendo un enorme número de translocaciones, cambios y pérdidas cromosómicas ^(361, 366).

Representan entre el 10-20% de todos los cánceres de mama, dependiendo de las características demográficas de la población ⁽³³⁰⁾. La raza afro-americana y la hispana presentan una mayor proporción de este subtipo tumoral, principalmente a edades jóvenes ^(266, 330, 335, 345, 356).

El rápido crecimiento que presentan y la incidencia mayor en mujeres jóvenes pueden hacer difícil la detección mamográfica, siendo frecuente la presentación como “cáncer de intervalo” ^(330, 344); es decir, el que aparece entre dos pruebas de screening protocolizadas consecutivas ⁽³⁶⁷⁾. En pacientes jóvenes con tumores Triple Negativo con tamaño tumoral subcentimétrico presentan un mayor riesgo de recurrencia, demostrándose estadísticamente la independencia de la edad y del subtipo tumoral Triple Negativo como factor pronóstico ⁽⁷³⁾.

Con respecto al tamaño tumoral hay resultados contradictorios. Alguna publicación no encuentra diferencias significativas respecto a los otros subtipos ⁽³⁶⁸⁾, mientras que en otras parece relacionarse con un tamaño tumoral mayor ^(331, 338, 342).

En cuanto a variabilidad en afectación ganglionar, únicamente dos estudios han asociado mayor afectación adenopática a los tumores Triple Negativo ^(266, 342), no confirmándose ésta en el resto de los trabajos ^(194, 266, 330-331, 335, 338, 368).

Otro hallazgo descrito es la agrupación con histologías poco frecuentes como tumores medulares ^(151, 357, 369-370) y metaplásicos ^(151, 366) e histologías más agresivas ⁽³³⁵⁾.

En pacientes con cáncer de mama Triple Negativo parece no haber diferencia en invasión vascular linfática y/o invasión vascular venosa ni en recaída loco-regional con respecto a otros subtipos tumorales ^(341, 371), aunque algunas publicaciones sí describen más recaídas loco-regionales ⁽³³⁶⁻³³⁷⁾. Sin embargo, se observó una mayor frecuencia de metástasis viscerales en este subgrupo (particularmente en pulmón y SNC) ^(336-337, 342, 355-356) y menor diseminación a hueso, lo que ratifica un diferente comportamiento biológico ^(171, 339, 342, 356, 368, 371-372).

La curva de supervivencia difiere de los otros subtipos siendo la menor en Triple Negativo ^(194, 330, 336, 338, 342-343). Se ha observado un corto período de tiempo desde la recidiva al fallecimiento ^(331, 339, 342, 344), existiendo un brusco descenso en la

supervivencia durante los primeros 3 a 5 años tras el diagnóstico ^(194, 330, 336, 339), pero la recaída a distancia tras ese período es menos frecuente ^(342-343, 358, 368).

La recidiva se encuentra en torno al 10% incluso en pacientes con estadio pT1bN0 y pT1cN0 que han recibido tratamiento quimioterápico con Antraciclinas, Paclitaxel y Ciclofosfamida ⁽³³⁴⁾.

Rouzier observó en este subgrupo y en el ErbB2 mayor porcentaje de respuestas a quimioterapia neoadyuvante con Antraciclinas y Paclitaxel. Pero el subtipo Triple Negativo no fue un predictor independiente de respuesta a quimioterapia neoadyuvante cuando se ajustaba por grado tumoral y expresión de Ki-67 ⁽³²¹⁾.

La publicación de De Ronde confirma los mismos hallazgos patológicos de mayor número de respuestas completas ⁽³⁷³⁾.

En el estudio BCIRG 001 se obtenía beneficio al añadir Docetaxel a las antraciclinas también en el subgrupo Triple Negativo ⁽¹⁹⁴⁾.

Carey refiere que las pacientes que no alcanzan una respuesta patológica completa presentan un mal pronóstico con un alto porcentaje de recaídas y muerte temprana, a pesar de que presenten alta sensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante ⁽³³²⁾. Bhargava ratifica las mismas observaciones ⁽³⁵³⁾.

Liedtke además señalaba que, si se obtenía una respuesta patológica completa, la supervivencia era similar a subtipos de mejor pronóstico como los luminales⁽³⁶⁸⁾.

En cuanto a la enfermedad metastásica parecen prometedores los resultados de los inhibidores de la PARP. En un estudio fase II aleatorizado con Iniparib añadido a una combinación de Carboplatino y Gemcitabina⁽³⁷⁴⁾ se observó un beneficio en respuestas, supervivencia libre de progresión y supervivencia global.

Sin embargo los resultados del ensayo fase III con la misma combinación no resultaron tan satisfactorios. También Olaparib ha demostrado beneficio en pacientes con mutación de BRCA-1 y 2, principalmente en cáncer de ovario⁽³⁶⁴⁻³⁶⁵⁾.

1.5.2. OTROS PERFILES DE EXPRESIÓN GÉNICA

La expansión de la tecnología genómica ha conducido a su uso progresivo en medicina y al desarrollo de proyectos cuyo objetivo es mejorar el pronóstico y tratamiento de los pacientes. Así se han difundido varias plataformas genéticas, que persiguen una mayor exactitud en la predicción de riesgo de recaída y muerte por cáncer de mama, de las que haremos una breve reseña.

En esta última década, paralelamente a los estudios de Perou y Sorlie, un grupo holandés dirigía sus investigaciones en la misma dirección estudiando muestras de enfermas con cáncer de mama sin afectación ganglionar ^(77, 198). El Netherlands Cancer Institute de Amsterdam definió un método de clasificación genético consistente en 70 genes relacionados con la proliferación, invasión, metástasis, integridad del estroma y angiogénesis. La determinación de su expresión precisa muestra en fresco de tejido tumoral (Mammaprint^R). Este perfil predecía la recaída en mujeres con cáncer de mama sin afectación ganglionar en menores de 55 años ^(77, 198). Se validó en pacientes de varios centros europeos, discriminando entre bajo y alto riesgo de recaída y, resultando un factor pronóstico independiente ⁽³⁷⁵⁾.

Wang y sus colaboradores seleccionaron un conjunto de 76 genes, denominado “firma de Rotterdam”, capaz de predecir la recaída en un pequeño grupo de enfermas de diferente edad, grado, tamaño tumoral y estado de receptores hormonales, sin afectación ganglionar. Esta firma también fue validada en una muestra independiente

de 180 casos de cáncer de mama sin afectación ganglionar, demostrando valor pronóstico en tiempo a la recaída y supervivencia global ⁽³⁷⁶⁾.

Estas dos plataformas génicas descritas comparten sólo tres genes, ambas son buenas predictoras del desarrollo de metástasis a distancia, pero, presentan una limitación importante para su aplicación: la necesidad de muestras tumorales frescas o congeladas.

Otra aproximación posible es la clasificación por agrupaciones de genes según el “modelo de respuesta cicatricial”, separando grupos de riesgo según la correlación entre la respuesta cicatricial y el comportamiento biológico del tumor ⁽³⁷⁷⁾.

El “modelo del Grado Genómico” (GGI) está basado en un grupo de 97 genes, expresados diferencialmente entre los cánceres de mama de alto y bajo grado que están asociados a la progresión del ciclo celular y a la proliferación tumoral ⁽³⁷⁸⁾.

Paik y su equipo identificaron una escala de recurrencia basada en 21 genes estudiados en muestras parafinadas (Oncotype Dx^R) según la cual, las pacientes con expresión de receptores de estrógeno y sin afectación ganglionar, fueron clasificadas en bajo, intermedio y alto riesgo de recurrencia ⁽²⁰⁰⁾. Este “Recurrence Score” (marcador de recurrencia) no sólo cuantificaba la posibilidad de recaída en pacientes hormonosensibles sin afectación ganglionar, además predecía la magnitud del beneficio de la quimioterapia ⁽³²⁵⁾. Incluso se ha sugerido que pudiera complementarse

con el programa Adjuvant online!⁽³⁾ para decidir de forma más precisa la necesidad o no de quimioterapia complementaria⁽³⁷⁹⁾. En un estudio con inclusión de pacientes con y sin afectación ganglionar se demostró como mayor predictor de recaída que las variables clínicas estándar incluidas en el programa Adjuvant online!⁽³⁸⁰⁾. Se ha validado también en otro trabajo en mujeres con adenopatías axilares positivas que recibieron el esquema de quimioterapia CAF (Ciclofosfamida, Adriamicina y 5-FU)⁽³²⁴⁾ y en enfermas del estudio ATAC⁽³⁸¹⁾.

Otros grupos de genes estudiados con capacidad pronóstica han sido: la ratio HOXB13 versus IL17BR en pacientes tratadas con Tamoxifeno⁽³⁸²⁾, genes relacionados con la secuenciación de la mutación de p53⁽³⁸³⁾ y genes relacionados con la activación del estroma⁽³⁸⁴⁾.

Cada cluster o agrupación de genes de los modelos anteriormente expuestos, es diferente.

En un intento de comparar las predicciones de distintos sets de genes para muestras individuales, Fan obtuvo datos de 295 tumores en los que estudió la expresión de los genes de los siguientes modelos: el de subtipos tumorales intrínsecos de Perou y Sorlie, el de Mammaprint, el de Oncotype Dx, el de respuesta cicatricial y el modelo de ratio HOXB13/ IL17BR en pacientes tratadas con Tamoxifeno. Encontró una alta concordancia, en la mayoría de los modelos, en la predicción para cada muestra individual. En particular, casi todos los tumores identificados como un subtipo

intrínseco tumoral basal, ErbB2 o Luminal B fueron también clasificados como de mal pronóstico en el Mammaprint, en el Oncotype Dx y en el modelo de respuesta cicatricial. Es decir, cuatro de los cinco modelos testados muestran significativa analogía en la predicción pronóstica y diferencian fenotipos biológicos tumorales distintos ⁽³⁴⁶⁾.

Desmedt realizó un metanálisis integrando el perfil de expresión génica de 2100 pacientes con cáncer de mama. Inicialmente definió los sets de genes asociados con procesos biológicos asociados al tumor: proliferación, invasión tumoral, metástasis, disminución de la respuesta inmune, angiogénesis, evasión de la apoptosis, producción de factores de crecimiento, expresión de receptores estrogénicos y de c-erbB2. Observó tres categorías de riesgo y tres fenotipos biológicos y tumorales (RE+ / c-erbB2-, RE-/ c-erbB2- y c-erbB2+) distintos en su pronóstico ⁽³⁸⁵⁾.

Sotiriou llegó a la misma conclusión estudiando varios de los modelos descritos con anterioridad, añadiendo que la expresión de los diferentes grupos de genes conducen a subtipos tumorales biológica y pronósticamente variables ⁽²⁰²⁾ (Figura 7).

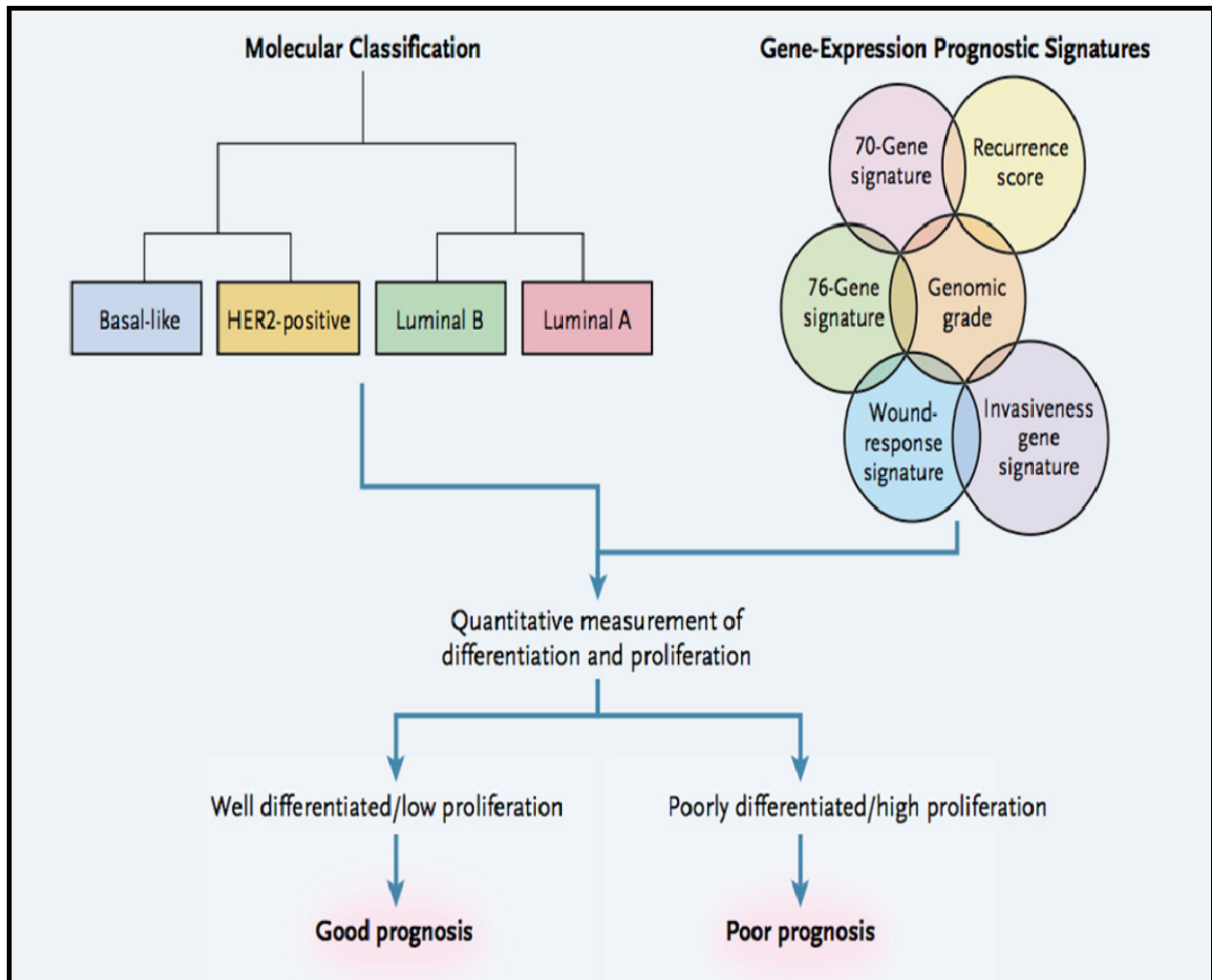


Figura 7. Relación entre los Perfiles de Expresión Génica, la clasificación tumoral y el pronóstico (202)

1.5.3. APLICACIONES ACTUALES DE LOS PERFILES DE EXPRESIÓN GÉNICA

El cáncer de mama comprende un grupo de enfermedades con demostrada heterogeneidad molecular, histopatológica y clínica. Esta diversidad molecular se manifiesta en diferencias en el perfil de expresión génica, diferencias en la frecuencia y magnitud de las aberraciones cromosómicas y variaciones en la expresión de proteínas de los diversos cánceres de mama, incluso en aquellos con similar tipo histológico. Esta variabilidad molecular se refleja en el curso clínico de la enfermedad y en la respuesta al tratamiento.

Por tanto, sería de gran trascendencia poder reconocer el riesgo de recidiva y muerte en cada paciente y apropiar la terapéutica complementaria tras la exéresis del tumor, o incluso prescindir de ella.

En realidad las cuestiones que desearíamos resolver, todavía sin poder satisfacer de forma absoluta, son:

1. ¿Cómo identificar a las pacientes sin afectación ganglionar con muy bajo riesgo de recaída?
2. ¿Cómo evaluar en estas pacientes el balance riesgo/ beneficio?
3. ¿Cómo predecir la respuesta a los actuales tratamientos, evitando o disminuyendo la resistencia a los mismos?
4. ¿Cómo identificar marcadores “diana” celulares para las terapias dirigidas?

La esperanza actual es que los perfiles de expresión génica tengan aplicación práctica y podamos dar respuestas más precisas a las incógnitas referidas ⁽³⁸⁶⁾.

Pero a pesar de la importancia de estos perfiles de expresión génica, su gran limitación, junto a la validación en estudios prospectivos en curso, es su aplicación masiva en la práctica clínica diaria. La utilización de Mammaprint requiere tejido tumoral fresco y, aunque en Oncotype Dx se usan muestras parafinadas, no siempre es factible la ejecución técnica óptima.

Por otra parte, en un futuro deberían estar a disposición de cualquier patólogo que evaluase una pieza de mastectomía, lo que, quizá no siempre fuese factible desde el punto de vista económico para nuestras autoridades sanitarias.

Actualmente están pendientes de validarse en ensayos prospectivos los test genéticos Mammaprint (estudio MINDACT) y Oncotype Dx (estudio TAILOR X). El primero ha sido aprobado por la FDA para la evaluación de riesgo de recaída en pacientes sin afectación ganglionar. El test Oncotype Dx se recomienda en las Guías de Práctica Clínica Oncológica Americanas (www.nccn.org) para la evaluación de la administración de tratamiento adyuvante en enfermas con tumores menores de 0.5 cm sin afectación ganglionar, con expresión de receptores hormonales ^(200, 325).

En definitiva, hay consenso, en todos los estudios citados, en que los distintos subtipos intrínsecos moleculares e inmunohistoquímicos de las neoplasias mamarias tienen valor pronóstico y determinan un variable riesgo de recaída y de muerte. Sería de gran ayuda poder añadirlos a los factores pronósticos clásicos, para intentar optimizar las actuaciones terapéuticas complementarias tras la extirpación del cáncer de mama ⁽⁵⁾.

2. HIPÓTESIS DE TRABAJO

La marcada heterogeneidad molecular y biológica del cáncer de mama descrita por primera vez mediante estudios de microarrays hace ya una década, genera una serie de ingente actividad investigadora en la actualidad. Adecuar el tratamiento complementario tras la exéresis del tumor es la meta a conseguir. Múltiples estudios pretenden identificar los subtipos intrínsecos tumorales, descritos por Sorlie y Perou, mediante técnicas inmunohistoquímicas para poder aplicarlos con más facilidad a la práctica clínica.

Nuestra **hipótesis de trabajo** consiste en establecer las diferencias, si las hubiera, entre las pacientes según el subtipo molecular al que pertenezcan (Luminal, ErbB2 o Triple Negativo) una vez clasificados según su perfil inmunohistoquímico.

Para ello valoraremos en nuestra muestra la correlación de las diversas variables patológicas entre sí, con la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad, determinando si existe diferencia en el pronóstico en relación a los subtipos moleculares, principalmente en el subgrupo Triple Negativo.

3. OBJETIVOS

En nuestro estudio, analizando los datos de pacientes con cáncer de mama del Registro de Tumores del Complejo Hospitalario de Ourense (CHUO), perseguimos los siguientes **objetivos**:

1. Describir el comportamiento de los factores pronósticos clásicos en nuestra muestra y confirmar su valor pronóstico.
2. Identificar mediante métodos inmunohistoquímicos (RE, RP, Her2-neu, CK 5/6, EGFR) los subtipos intrínsecos moleculares de cáncer de mama (Luminal A y B, Erb-B2, Triple Negativo).
3. Determinar si la clasificación de los tumores en subtipos histológicos según la combinación de las variables inmunohistoquímicas determinan diferente pronóstico en las pacientes intervenidas de cáncer de mama.
4. Comprobar si los tumores que expresan fenotipo basal (RE-, RP-, Her2-neu -, CK 5/6 + y/o EGFR +) se comportan de manera diferente a aquellos categorizados clásicamente como "Triple Negativo" (RE-, RP-, Her2-neu -).
5. Comprobar si la clasificación en subtipos histológicos discrimina diferentes perfiles evolutivos dentro de los factores pronósticos clásicos en pacientes intervenidas de cáncer de mama.

4. MATERIAL Y MÉTODO

4.1. TIPO DE ESTUDIO

Para este estudio descriptivo y de supervivencia se utilizó el Registro de Tumores del Complejo Hospitalario Universitario de Ourense (CHUO), que recoge todos los casos incidentes de cáncer de mama diagnosticados en el centro.

A las variables ya recogidas prospectivamente se añadieron de forma retrospectiva las siguientes: expresión de receptores de estrógeno y progesterona, de la proteína Her2-neu, expresión de Ki-67, mutación de p53, tratamiento radioterápico, tratamiento quimioterápico, tipo e intensidad de dosis del mismo, tipo de tratamiento hormonal, situación de la paciente y de la enfermedad en el momento de la recogida de datos (Octubre-2010) y tipo de recaída y subtipos tumorales.

4.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

4.2.1. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA POBLACIÓN

La población general incluida en nuestra base de datos la componen los pacientes afectos de cáncer de mama diagnosticados en el Complejo Hospitalario de Ourense entre el 1 de Enero de 1997 y el 31 de Diciembre de 2004 que, pertenecían a diferentes lugares de la provincia, exceptuando el área de Salud de El Barco de Valdeorras.

Se trata de una cohorte de 1122 pacientes, de ellos 1108 mujeres, que fueron intervenidos en el Servicio de Cirugía-Unidad de Mama de dicho hospital, aunque no todos fueron enfermos tratados en el Servicio de Oncología Médica.

4.2.2. EXCLUSIONES Y PÉRDIDAS EN EL SEGUIMIENTO

Se han excluido del análisis los carcinomas intraductales, in situ y metastásicos y los pacientes varones.

Se han analizado los datos extraídos de las enfermas con tumores de cualquier morfología y grado histológico, tamaño tumoral y afectación ganglionar.

La pérdida de seguimiento en historia clínica se produjo en 21 pacientes. Sin embargo, a pesar de trasladarse algunas de domicilio, fue posible contactar con ellas y conocer su situación en el momento de la inclusión de datos (Octubre-2010). De este modo fueron evaluables para el análisis.

4.2.3. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

Nuestra muestra por tanto es de 888 pacientes para el análisis descriptivo global de factores pronósticos clásicos.

En 208 pacientes, debido a la ausencia de alguna variable inmunohistoquímica (RE, RP, Her2-neu o Ki-67), no fue posible su clasificación en subtipos tumorales. Es decir, se impedía su agrupación según el modelo de los subtipos moleculares Luminal A, Luminal B, ErbB2 y Triple Negativo.

Por tanto, se incluyeron para el análisis de factores pronósticos por subtipos tumorales 680 mujeres y 888 para el análisis de factores pronósticos clásicos.

4.3. VARIABLES A ESTUDIO

La información ha sido obtenida de las historias clínicas y del informe anatomopatológico de las pacientes con cáncer de mama por dos oncólogos.

Fueron recogidas las siguientes variables: edad, tamaño, localización y tipo de tumor, número de ganglios afectados por el tumor, grado histológico del mismo, expresión de receptores de estrógeno y progesterona, de la proteína Her2-neu, expresión de Ki-67, mutación de p53, tratamiento quirúrgico realizado sobre la mama y la axila, tratamiento radioterápico, tratamiento quimioterápico, tipo e intensidad de dosis del mismo, tipo de tratamiento hormonal, situación de la paciente y de la enfermedad en el momento de la recogida de datos (Octubre-2010) y tipo de recaída, si la hubiere.

Una vez completada la recogida de datos se ha estudiado cuáles de estas variables podían ser consideradas como factores pronósticos de supervivencia, tras los análisis estadísticos realizados que se expondrán más adelante.

Paralelamente, tras la división inmunohistoquímica detallada posteriormente, se han clasificado las pacientes en subtipos tumorales y se ha examinado si estos constituyen un factor pronóstico añadido a los anteriores.

4.4. TÉCNICAS DE INMUNOHISTOQUÍMICA Y SUBTIPOS TUMORALES

Las técnicas inmunohistoquímicas se realizaron en el servicio de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Universitario de Ourense (CHUO). La mayoría de ellas se muestran en el informe anatomo-patológico rutinario de la neoplasia: Receptores de Estrógeno y de Progesterona, expresión de Her2-neu, expresión de Ki-67, mutación de p53.

La positividad en la expresión de los receptores de Estrógeno y Progesterona se validó por enzimoimmunoanálisis utilizando anticuerpos monoclonales (DAKO y MENARINI respectivamente). El revelado se hizo con 3,3'-diaminobenzidina (DAKO). Una vez finalizada la reacción, los preparados fueron teñidos con hematoxilina, por 10-

30 segundos, como tinción de contraste. Según la intensidad de la tinción se usó la clasificación de positividad fuerte o marcada (+++), moderada (++) , débil o leve (+) y negativa (-). La intensidad de reacción de las muestras fue comparada con controles negativos y validada por un único anatómo-patólogo. En las muestras pertenecientes al año 1997 la determinación se realizó fuera de nuestro hospital, en Laboratorios Balagué de Barcelona (España), por técnica de unión al ligando expresándose los resultados en femtomoles de proteína del receptor estrogénico por miligramo de proteína del cistosol (fmol/mg). Se definió como positividad ≥ 10 femtomoles/mg.

En las pacientes más antiguas (1997-2000) hubo que recuperar la muestra parafinada para la realización del análisis de la expresión de Her2-neu. Se describe la sobreexpresión de Her2-neu utilizando el examen DAKO HercepTest (DAKO Cytomation; Carpinteria, California). Se interpretó como intensamente positiva (puntuación de 3+) la tinción completa e intensa en la membrana en más del 10% de células tumorales.

En cuanto a la medición de CK 5/6 y EGFR realizada en los tumores Triple Negativo, también a posteriori, se utilizaron igualmente los kits de medida de DAKO (DAKO Cytomation; Carpinteria, California). Se interpretó como expresión, en ambos parámetros, cuando se observó tinción del citoplasma o de la membrana de la célula tumoral invasiva.

Con respecto a la determinación de la expresión de Ki-67, la medida se realiza según el porcentaje de células tumorales teñidas por el anticuerpo utilizado (MIB-1, también de DAKO). Se consideró para el estudio como baja expresividad cuando era <15, aplicando el modelo pronóstico de Guarneri (181).

Los subtipos tumorales por criterios inmunohistoquímicos fueron divididos de la siguiente forma:

- **Luminal A:** Positividad para receptores de estrógeno y/o progesterona (RE y/o RP), niveles bajos de Ki-67 y ausencia de expresión de Her2-neu.
- **Luminal B:** Positividad para receptores de estrógeno y/o progesterona (RE y/o RP), niveles altos de Ki-67 y/o expresión de Her2-neu.
- **Erb-B2:** Negatividad para receptores de estrógeno y/o progesterona (RE y/o RP) y expresión de Her2-neu, independientemente de los niveles de Ki-67.
- **Triple Negativo:** Negatividad para receptores de estrógeno y/o progesterona (RE y/o RP) y ausencia de expresión de Her2-neu, independientemente de los niveles de Ki-67. Dentro de este grupo podemos clasificar a las pacientes en: Basal-Like (cuando aparece expresión de CK 5/6 y/o EGFR) y no Basal-like (ausencia de expresión de CK 5/6 y/o EGFR).

4.5. SEGUIMIENTO DE LA MUESTRA

Las pacientes fueron evaluadas según el siguiente protocolo:

- Anamnesis y exploración física cada tres meses durante los dos primeros años tras la exéresis del tumor. Posteriormente cada seis meses entre el tercer y quinto año. Finalmente anualmente tras el quinto año.
- Analítica con Marcadores Tumorales (CEA y Ca 15.3) con similar cadencia a la de la anamnesis y exploración física.
- Mamografía ipsilateral y/o contralateral anual.
- Ecografía Abdominal anual si recibían tratamiento hormonal adyuvante o si no lo recibían en el caso de que hubiera alguna toxicidad secundaria al tratamiento adyuvante recibido.
- Radiografía de Tórax anual si habían recibido tratamiento radioterápico adyuvante.
- Exploración Ginecológica anual (con Ecografía Endovaginal si recibían tratamiento hormonal adyuvante).

4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se recogieron en una base diseñada a tal efecto. Para el análisis se utilizó el programa SPSS 15.0.

El estudio estadístico se llevó a cabo en la Unidad de Apoyo a la Investigación del Complejo Hospitalario Universitario de Ourense (CHUO).

En primer término se realizó un estudio descriptivo de la población de estudio. Las variables cualitativas se describieron con frecuencias absolutas y relativas, y las cuantitativas con medidas de tendencia central: media, mediana, moda y de dispersión: desviaciones típica, rango o intervalo de confianza al 95%.

Se realizó un análisis bivalente con los test estadísticos que corresponden según el tipo de variable; Chi-cuadrado para variables cualitativas y t de Student-Fisher para variables cuantitativas. Cuando las variables no siguieron una distribución normal se aplicaron los test no paramétricos que correspondían.

Se estimó la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad utilizando regresiones de Cox y el método de Kaplan Meier, para las variables pronósticas clásicas. Posteriormente se realizó un nuevo análisis de supervivencia según el subtipo tumoral (Luminal, ErbB2 y Triple Negativo) y un análisis de regresión de Cox en el que se incluyeron como variables independientes los factores pronósticos clásicos, los parámetros inmunohistoquímicos y los subtipos tumorales.

Igualmente se procedió a las mismas evaluaciones en los tumores Basal-Like y no Basal-Like o Normal-Like dentro del subtipo Triple Negativo.

Se consideró que los resultados eran significativos siempre que se obtuvieron valores de $p < 0,05$.

4.7. ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES

El estudio contó con la aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia (CEIC de Galicia) con número de registro 2010/ 427 (Anexo 1). Fue diseñado de forma que se respetasen los principios éticos para las investigaciones médicas de la asociación médica mundial que quedan reflejadas en la declaración de Helsinki y sus posteriores modificaciones. Del mismo modo se respetó la normativa Europea y estatal en lo que a investigación médica se refiere con especial mención a la Ley Orgánica 15/99 de protección de datos de carácter personal.

5. RESULTADOS

Aportamos los resultados del análisis descriptivo global de los factores pronósticos clásicos en 888 pacientes.

En 208 pacientes, debido a la ausencia de alguna variable inmunohistoquímica (RE, RP, Her2-neu o Ki-67), no fue posible su clasificación en subtipos tumorales. Por tanto, presentamos los datos de las 680 mujeres que se incluyeron para el análisis de factores pronósticos por subtipos tumorales.

La media de seguimiento fueron 7.62 años y la mediana 7.68. El tiempo máximo de seguimiento alcanzado por las pacientes más antiguas fue de 13.45 años.

5.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA

Hemos descrito los siguientes parámetros en la muestra: edad, lateralidad, extensión de la enfermedad previa al inicio del tratamiento, histología, tamaño del tumor y afectación ganglionar, grado de diferenciación, expresión de receptores de estrógeno, progesterona y Her2-neu y expresión de Ki-67, existencia de mutación de p53, distribución por subtipos tumorales intrínsecos, tipo de tratamiento quirúrgico y disección axilar, recepción de radioterapia y quimioterapia, tipo de quimioterapia e intensidad de dosis recibida, tratamiento hormonal, muertes y recaídas y lugares de recaída.

5.1.1. DISTRIBUCIÓN POR GRUPOS DE EDAD

Aunque hay representatividad en nuestra muestra de todos los grupos de edades en los que globalmente se observa incidencia de cáncer de mama, la edad media de las mujeres a estudio fue de 62,10 años con una desviación típica de 14,60. La mediana de edad fue 62 y con una amplitud de intervalo entre [27-96].

La distribución por grupos de edad también fue característica y compatible con la distribución de la pirámide poblacional de la muestra: 59 pacientes menores de 40 años (6.64%), 321 entre 40 y 60 (36.15%) y, 508 mayores o iguales a 60 años (57.21%) (Figura 8).

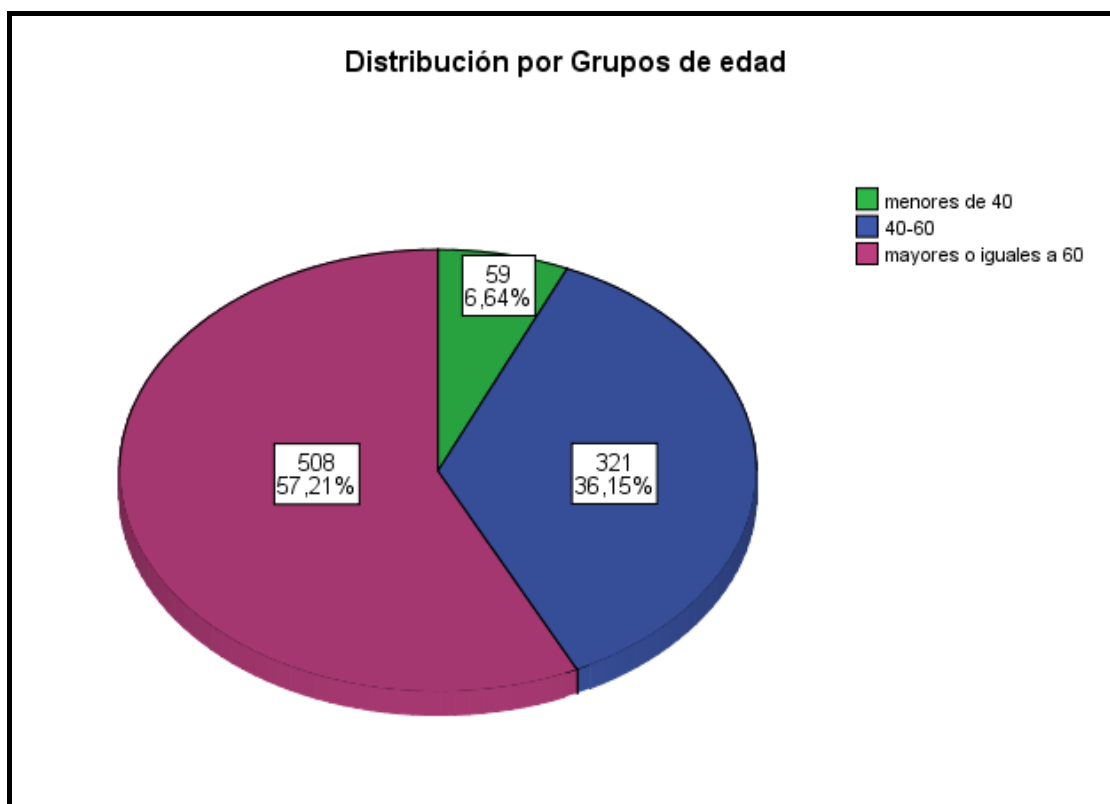


Figura 8. Distribución de la muestra por edades

5.1.2. LATERALIDAD

En cuanto a la mama afectada por la neoplasia también se reproducen los resultados esperados, con observación similar en ambos senos y con leve preponderancia del izquierdo sobre el derecho: 425 mujeres presentaron cáncer de mama derecho (47.86%), 229 presentaron cáncer de mama izquierdo (50.56%) y, 14 cáncer de mama bilateral (1.58%) (Figura 9).

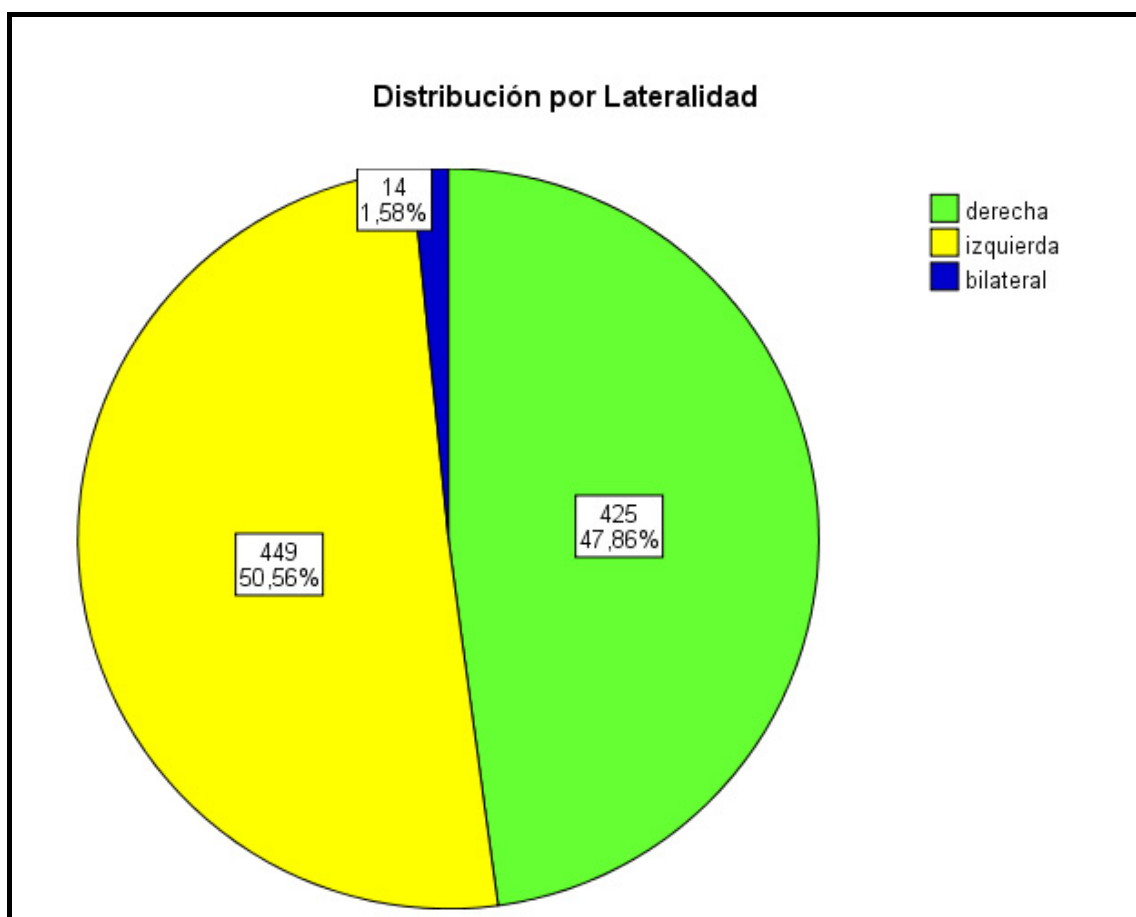


Figura 9. Distribución de la muestra por lateralidad

5.1.3. EXTENSIÓN DE LA ENFERMEDAD PREVIA AL TRATAMIENTO

Con respecto a la extensión de la enfermedad previa al tratamiento, había 469 mujeres con tumoración en la mama sin afectación de ganglios axilares (53.11%), 29 con tumoración localmente avanzada en la mama sin afectación tumoral de la axila (3.28%), 288 con afectación tumoral localizada de la mama y la axila simultáneamente (32.62%) y, 97 con un tumor localmente avanzado en la mama con afectación axilar sincrónica (10.99%) (Figura 10).

Se recogieron datos de 5 pacientes (0.60%) con diagnóstico de cáncer de mama sin poder precisar su extensión previa al tratamiento.

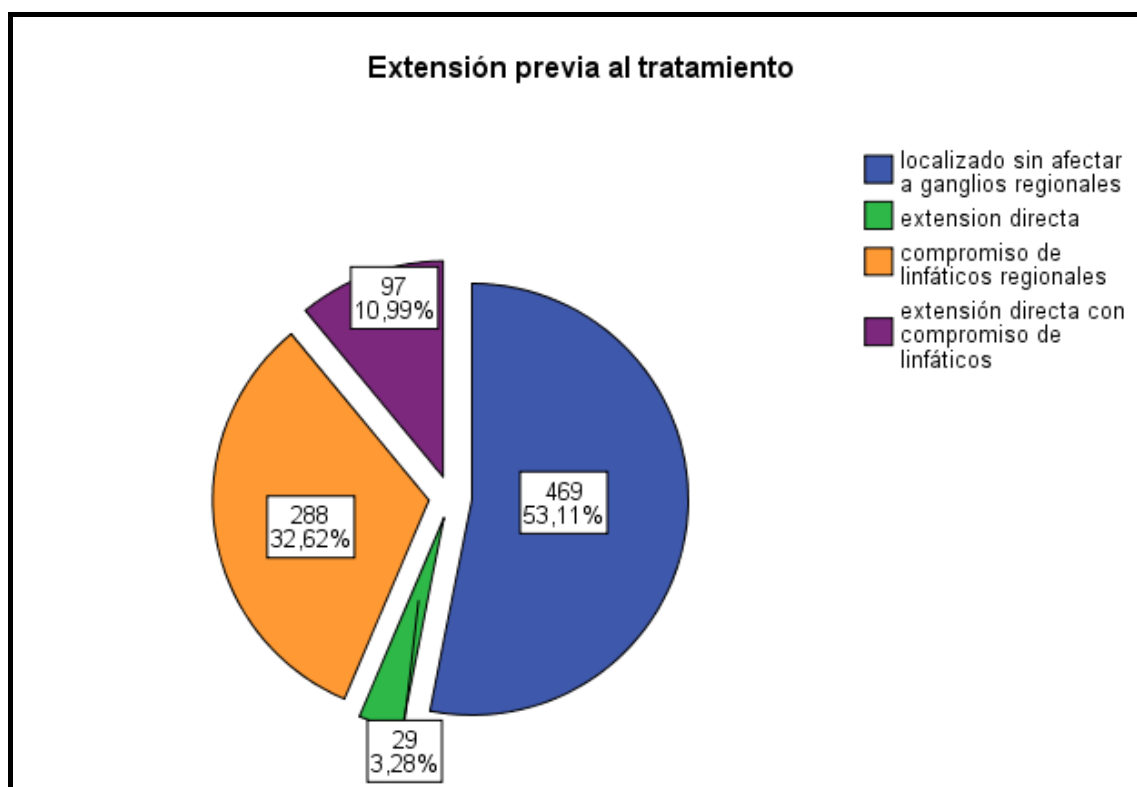


Figura 10. Distribución de la muestra por extensión del tumor previa al tratamiento

5.1.4. HISTOLOGÍA AGRUPADA

La distribución de la histología del cáncer de mama fue la siguiente: 743 casos de carcinoma ductal infiltrante (83.70%), 67 de carcinoma lobulillar infiltrante (7.50%), 22 de carcinoma tubular (2.50%), 19 de carcinoma mucinoso (2.10%), 16 de carcinoma medular (1.80%), 15 casos de carcinoma papilar (1.70%), 1 de carcinoma adenoide quístico (0.10%), 1 de carcinoma apocrino (0.10%), y 4 de carcinoma no clasificable (0.50%) (Tabla 1).

	FRECUENCIA n=888	%
CA. PAPILAR	15	1.70
CA. ADENOIDE QUÍSTICO	1	0.10
CA. APOCRINO	1	0.10
CA. MUCINOSO	19	2.10
CA. MEDULAR	16	1.80
CA. NO CLASIFICABLE	4	0.50
CA. TUBULAR	22	2.50
CA. DUCTAL INFILTRANTE	743	83.70
CA. LOBULILLAR INFILTRANTE	67	7.50

Tabla 1. Distribución de la muestra por Histología Tumoral

5.1.5. ESTADIO-TAMAÑO TUMORAL

El tamaño del tumor se dividió en categorías según el sistema TNM: T1 (menor o igual a 2 cm): 441 pacientes, 50.17%; T2 (de 2 a 5 cm): 336 pacientes, 38.23%; T3 (mayor de 5 cm): 60 pacientes, 6.83%; T4 (cualquier tamaño con extensión directa a la pared del tórax o a la piel): 42 pacientes, 4.78%. La mitad de las enfermas presentaban un estadio I, compatible con el diagnóstico precoz gracias al programa de Screening (Figura 11).

En 9 mujeres no se obtuvo el tamaño del tumor en la revisión de la historia clínica.

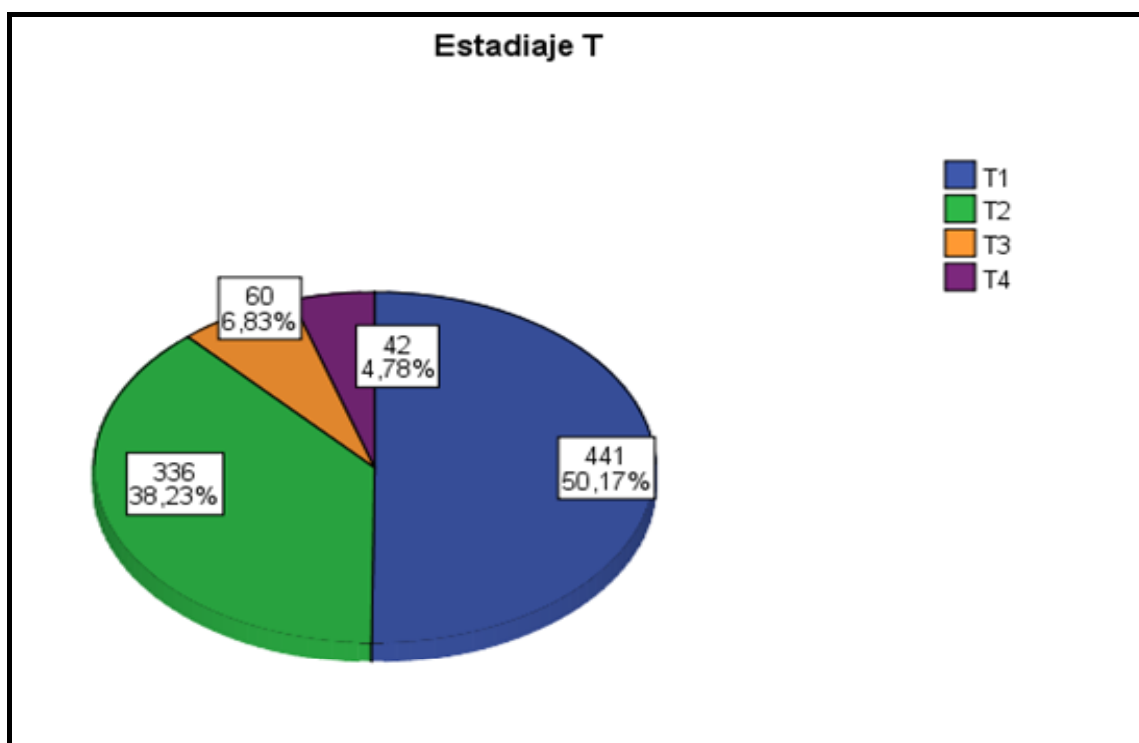


Figura 11. Distribución de la muestra por Tamaño Tumoral

5.1.6. ESTADIO-AFECTACIÓN GANGLIONAR

La ausencia de afectación ganglionar tumoral axilar en la anatomía patológica también sigue siendo representativa de un diagnóstico temprano y compatible con una buena adhesión al Programa de Detección Precoz de Cáncer de Mama de la Comunidad Autónoma Gallega: se observó en 459 mujeres, (51.70%). En 229 enfermas, (25.80%) se encontró invasión de 1 a 3 ganglios. En 75 pacientes, (8.40%) se observó afectación de 4 a 10 ganglios. En 72 pacientes, (8.10%) se observó afectación de más de 10 ganglios (Tabla 2).

En 53 mujeres, (6.00%) no se pudo obtener esta información en la historia clínica.

	FRECUENCIA n=888	%
N0	459	51.70
N1-3	229	25.80
N4-10	75	8.40
N>10	72	8.10
DESCONOCIDOS	53	6.00

Tabla 2. Distribución de la muestra según la Afectación Ganglionar Axilar

5.1.7. GRADO DE DIFERENCIACIÓN

Según el grado de diferenciación del tumor se dividieron en: Bien Diferenciados en 208 pacientes (26.56%); Moderadamente Diferenciados en 343 (43.81%) y pobremente diferenciados en 232 (29.63%). El grupo más numeroso fue el grado II o moderadamente diferenciado (Figura 12).

En 105 pacientes, no se obtuvieron datos sobre el grado de diferenciación tumoral.

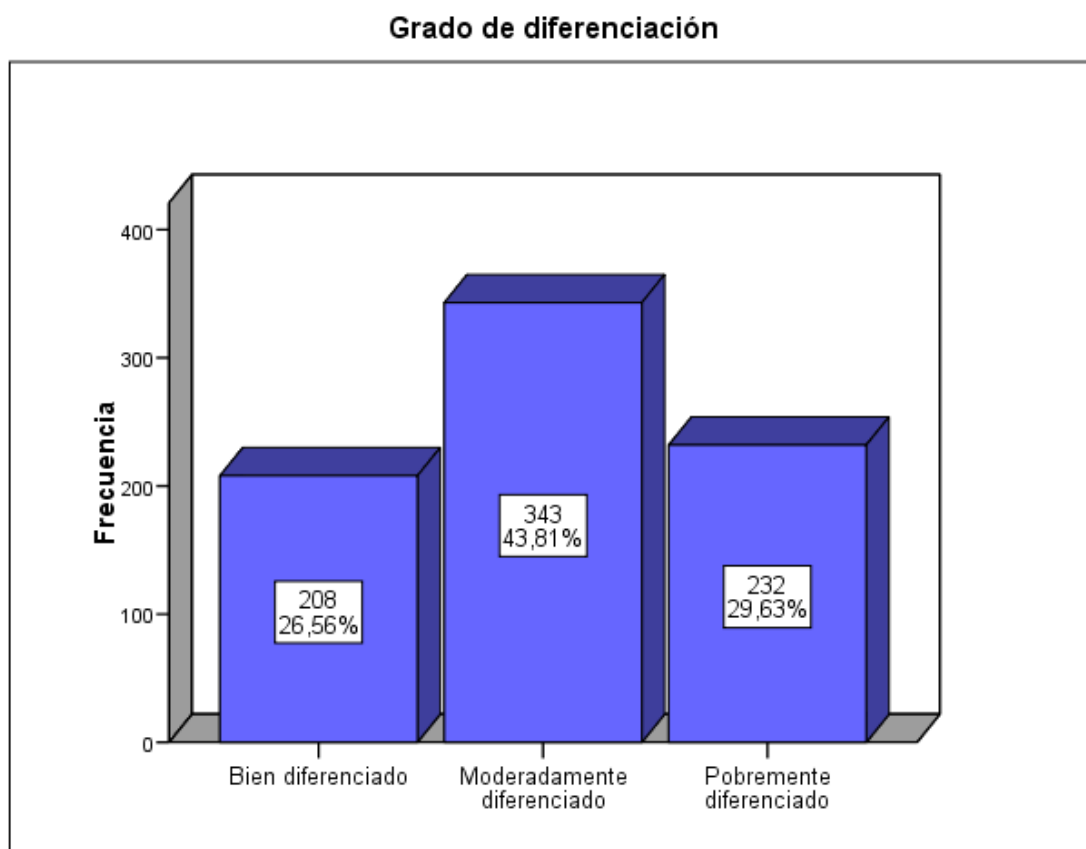


Figura 12. Distribución de la muestra según el grado de diferenciación del tumor

5.1.8. EXPRESIÓN DE RECEPTOR DE ESTRÓGENO

La expresión del Receptor Estrogénico (RE) se evidenció en 666 mujeres (75.00%), compatible con la mayor expresión observada en tumores que afectan a mujeres mayores y teóricamente de menor agresividad biológica. Este hecho era previsible debido al envejecimiento de la muestra poblacional que analizamos.

La ausencia de su expresión en 178 (20.00%) (Tabla 3 y Figura 13).

En 44 mujeres (5.00%) no se pudo obtener este dato en la historia clínica ni en las muestras parafinadas.

	FRECUENCIA n=888	%
NEGATIVO	178	20.00
POSITIVO	666	75.00
DESCONOCIDO	44	5.00

Tabla 3. Distribución de la muestra según la expresión de Receptores de Estrógeno

5.1.9. EXPRESIÓN DE RECEPTOR DE PROGESTERONA

De forma similar al apartado anterior, la expresión del Receptor de Progesterona (RP) se evidenció en 456 mujeres, (51.40%). La expresión de este receptor también se presenta en menor proporción que el de estrógeno en los tumores mamarios como esperábamos.

La ausencia de su expresión en 381 (42.90%) (Tabla 4 y Figura 13).

En 51 mujeres (5.70%) no se pudo obtener este dato en la historia clínica ni en las muestras parafinadas.

	FRECUENCIA n=888	%
NEGATIVO	381	42.90
POSITIVO	456	51.40
DESCONOCIDO	51	5.70

Tabla 4. Distribución de la muestra según la Expresión de Receptores de Progesterona

5.1.10. EXPRESIÓN DE RECEPTOR DE Her-2

La sobre-expresión del Receptor de Her2-neu se evidenció en 92 mujeres (10.40%). La ausencia de su expresión en 596 (67.10%) (Tabla 5 y Figura 13).

En 200 mujeres (22.50%) no se pudo obtener este dato en la historia clínica ni en las muestras parafinadas.

	FRECUENCIA n=888	%
NEGATIVO	596	67.10
POSITIVO	92	10.40
DESCONOCIDO	200	22.50

Tabla 5. Distribución de la muestra según la Expresión de Receptores de Her2-neu

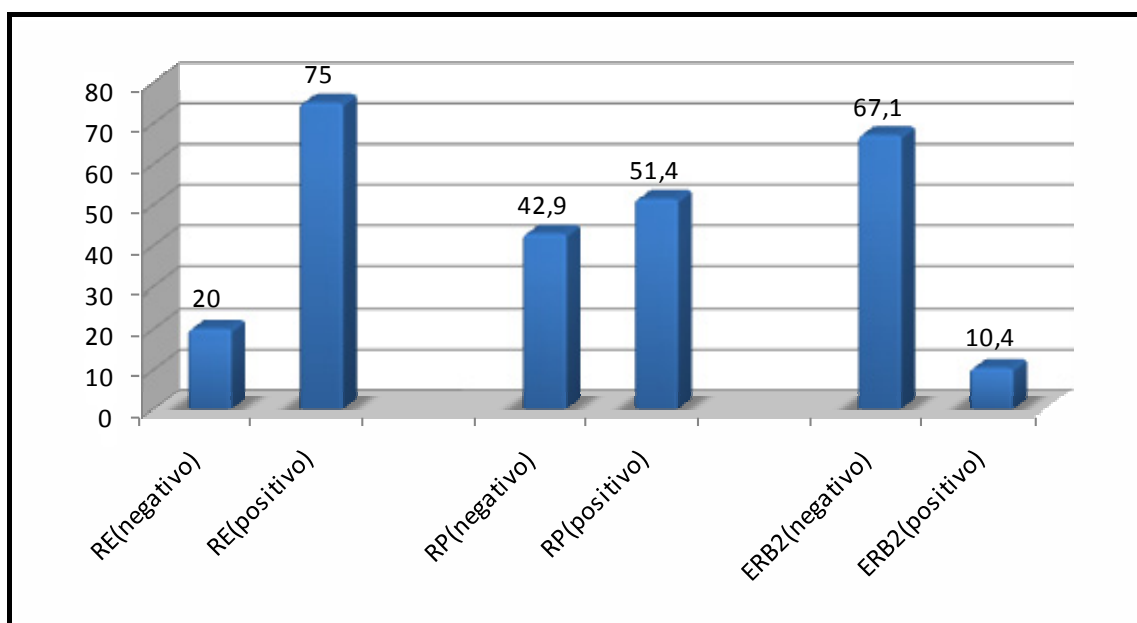


Figura 13. Distribución de la muestra según la expresión de Receptores Hormonales y Her2-neu

5.1.11. EXPRESIÓN DE Ki-67

En 410 pacientes, (46.20%) se observaron niveles de Ki-67 bajos (< 15%), y en 244 (27.50%) niveles altos (>15%) (Tabla 6).

En 234 pacientes (26.40%) no se pudo obtener este dato en la historia clínica.

	FRECUENCIA n=888	%
BAJO	410	46.20
ALTO	244	27.50
DESCONOCIDO	234	26.40

Tabla 6. Distribución de la muestra según los Niveles de Ki-67

5.1.12. EXPRESIÓN DE MUTACIÓN DE p53

En 109 pacientes (12.25%) se observó positividad para la mutación de p53 y en 544 (61.25%) negatividad (Tabla 7).

En 235 pacientes (26.50%) no se pudo obtener este dato en la historia clínica.

	FRECUENCIA n=888	%
NEGATIVO	544	61.25
POSITIVO	109	12.25
DESCONOCIDO	235	26.50

Tabla 7. Distribución de la muestra según la Mutación de p53

5.1.13. SUBTIPOS AGRUPADOS

Con respecto al subtipo tumoral, 100 enfermas (11.26%) se incluían en el grupo Triple negativo; 360 (40.54%) en el grupo Luminal A; 194 (21.85%) en el Luminal B; y 26 (2.93%) en el ErbB2 (Figura 14).

En 208 enfermas (23.42%) faltaba algún dato que impedía incluirlas en algún subtipo tumoral, por eso se evaluaron 680 en cuanto a factores pronósticos según subtipos tumorales.

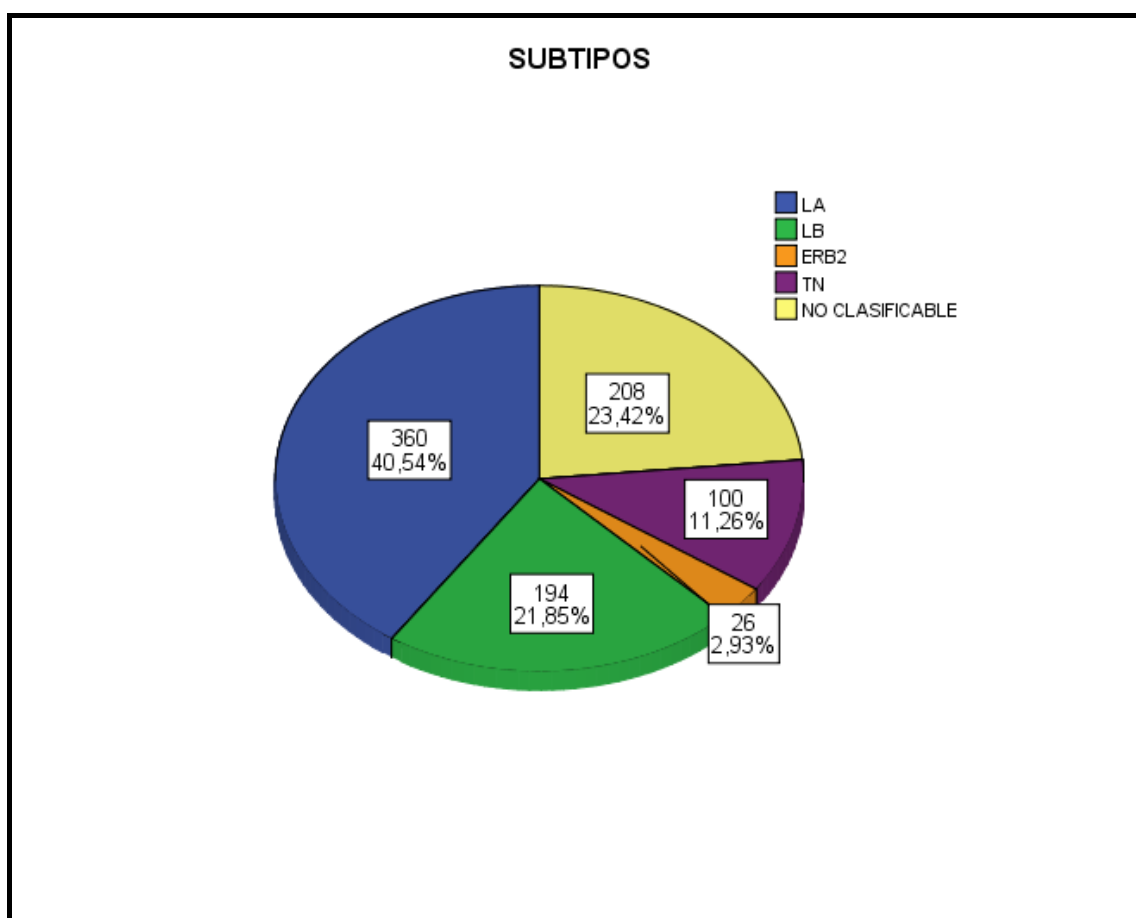


Figura 14. Distribución de la muestra según Subtipos Tumorales

5.1.14. TRIPLE NEGATIVO

Con respecto al subtipo tumoral, 100 enfermas (11.30%) se incluían en el grupo Triple negativo; 778 (87.60%) pertenecían a los otros subtipos tumorales (Tabla 8).

En 10 enfermas (1.10%) faltaba algún dato inmunohistoquímico que impedía clasificarlas en este subtipo tumoral o no.

	FRECUENCIA n=888	%
NO	778	87.60
SI	100	11.30
DESCONOCIDO	10	1.10

Tabla 8. Distribución de la muestra según Subtipo tumoral Triple Negativo u otros

5.1.15. TRIPLE NEGATIVOS (BASAL-LIKE/NO)

Las 100 pacientes pertenecientes al subtipo Triple Negativo se han dividido en Basal-like y no Basal-like tras la determinación en las muestras histológicas parafinadas de Citoqueratinas 5/6 (CK 5 y 6) y EGFR (Tabla 9).

En 7 enfermas no fue posible la clasificación por ausencia de disponibilidad de la muestra.

	FRECUENCIA n=100	%
Basal-Like	48	48.00
No Basal-like	45	45.00
Desconocido	7	7.00

Tabla 9. Distribución de la muestra según Subtipo Basal-Like en Triple Negativo

5.1.16. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO DE LA MAMA

En cuanto al tratamiento quirúrgico realizado sobre el tumor, 441 mujeres (49.70%) sufrieron una Mastectomía Radical Modificada (MRM) y 433 (48.80%) una Cirugía Conservadora (Segmentaria) (Tabla 10).

En 14 mujeres (1.60%) no se pudo determinar el tratamiento quirúrgico recibido.

	FRECUENCIA n=888	%
MASTECTOMIA RADICAL MODIFICADA (MRM)	441	49.70
CIRUGÍA CONSERVADORA	433	48.80
DESCONOCIDO	14	1.60

Tabla 10. Distribución de la muestra según el Tipo de Intervención Quirúrgica sobre el Tumor

5.1.17. DISECCIÓN AXILAR

En cuanto al tratamiento quirúrgico realizado sobre la axila, 780 mujeres (87.80%) sufrieron una Linfadenectomía Clásica y 38 (4.30%) se beneficiaron de la realización de la Técnica de Biopsia Selectiva del Ganglio Centinela (BSGC) (Tabla 11).

En 70 mujeres (7.90%) no se pudo determinar el tratamiento quirúrgico recibido en la axila.

	FRECUENCIA n=888	%
GANGLIO CENTINELA	38	4.30
LINFADENECTOMÍA CLÁSICA	780	87.80
DESCONOCIDO	70	7.90

Tabla 11. Distribución de la muestra según el Tipo de Intervención Quirúrgica sobre la Axila

5.1.18. RADIOTERAPIA

Recibieron tratamiento Radioterápico 544 mujeres (61.30%), y 335 (37.70%) no lo recibieron (Tabla 12).

En 9 (1.00%) no fue posible determinar la recepción del mismo.

	FRECUENCIA n=888	%
NO	335	37.70
SÍ	544	61.30
DESCONOCIDO	9	1.00

Tabla 12. Distribución de la muestra según la recepción de Tratamiento Radioterápico

5.1.19. QUIMIOTERAPIA

Se administró Quimioterapia a 505 mujeres (56.90%), y 373 (42.00%) no la recibieron (Tabla 13).

En 10 (1.10%) no fue posible determinar la administración de la misma.

	FRECUENCIA n=888	%
NO	373	42.00
SÍ	505	56.90
DESCONOCIDO	10	1.10

Tabla 13. Distribución de la muestra según la recepción de Tratamiento Quimioterápico

5.1.20. TIPO DE TRATAMIENTO DE QUIMIOTERAPIA

No se administró Quimioterapia a 373 mujeres (42.00%).

Entre las que la recibieron la distribución por esquemas de Quimioterapia fue la siguiente: CMF en 199 mujeres (22.40%), Antraciclinas en 234 (26.40%), Antraciclinas combinadas con Taxanos en 68 (7.70%) y otras combinaciones en 2 (0.20%) (Tabla 14).

En 12 mujeres (1.40%) no fue posible determinar el esquema de Quimioterapia administrado.

	FRECUENCIA n=515	%
CMF	199	38.64
ANTRACICLINAS	234	45.44
ANTRACICLINAS MÁS TAXANOS	68	13.20
OTRAS COMBINACIONES	2	0.39
DESCONOCIDO	12	2.33

Tabla 14. Distribución de la muestra según el Esquema de Quimioterapia recibido

5.1.21. INTENSIDAD DE DOSIS DE QUIMIOTERAPIA

Recibieron más del 85% de la intensidad de dosis de quimioterapia 400 mujeres (45.00%). 99 mujeres (11.10%) recibieron una intensidad de dosis baja (< 85%) (Tabla 15).

En 21 mujeres (2.40%) no se pudo determinar esta variable en la historia clínica.

	FRECUENCIA n=515	%
< 85%	99	19.22
>/ = 85%	400	77.67
DESCONOCIDO	16	3.11

Tabla 15. Distribución de la muestra según la Intensidad de Dosis de Quimioterapia recibida

5.1.22. TRATAMIENTO HORMONAL

Con respecto al tratamiento hormonal 157 pacientes (17.70%) no lo recibieron. En 13 pacientes (1.50%) no disponíamos de este dato en la historia clínica y 718 pacientes lo recibieron (80.90%).

Se administró Tamoxifeno a 513 mujeres (57.80%), Tamoxifeno e Inhibidor de la Aromatasa de modo secuencial a 157 (17.70%), Inhibidor de la Aromatasa en monoterapia a 39 (4.40%) y Análogo de la LHRH concomitante con Tamoxifeno a 9 mujeres (1.00%) (Tabla 16).

	FRECUENCIA n=888	%
SIN TRATAMIENTO HORMONAL	157	17.70
TAMOXIFENO 5 AÑOS	513	57.80
TAMOXIFENO MÁS INHIBIDOR DE AROMATASA	157	17.70
INHIBIDOR DE AROMATASA	39	4.40
ANÁLOGO DE LHRH MÁS TAMOXIFENO	9	1.00
DESCONOCIDO	13	1.40

Tabla 16. Distribución de la muestra según el tratamiento Hormonal recibido

5.1.23. ESTATUS

En el momento de la recogida de datos (Octubre-2010) la distribución del estado de las pacientes era el siguiente: 622 (70.00%) vivas, 238 (26.80%) fallecidas y en 28 (3.20%) se había perdido el seguimiento (Tabla 17).

	FRECUENCIA n=888	%
VIVO	622	70.00
MUERTO	238	26.80
DESCONOCIDO	28	3.20

Tabla 17. Estado de las pacientes en el momento del análisis

5.1.24. ESTADO AL CIERRE DEL ANÁLISIS

En el momento de la recogida de datos (Octubre-2010) la distribución de la situación clínica de las pacientes era: 622 (70.05%) vivas, 115 (12.95%) fallecidas por el tumor, 121 (13.63%) muertas sin relación con el tumor, 2 (0.23%) fallecidas por una muerte tóxica secundaria al tratamiento y en 28 (3.15%) se había perdido el seguimiento (Figuras 15, 16 y 17).

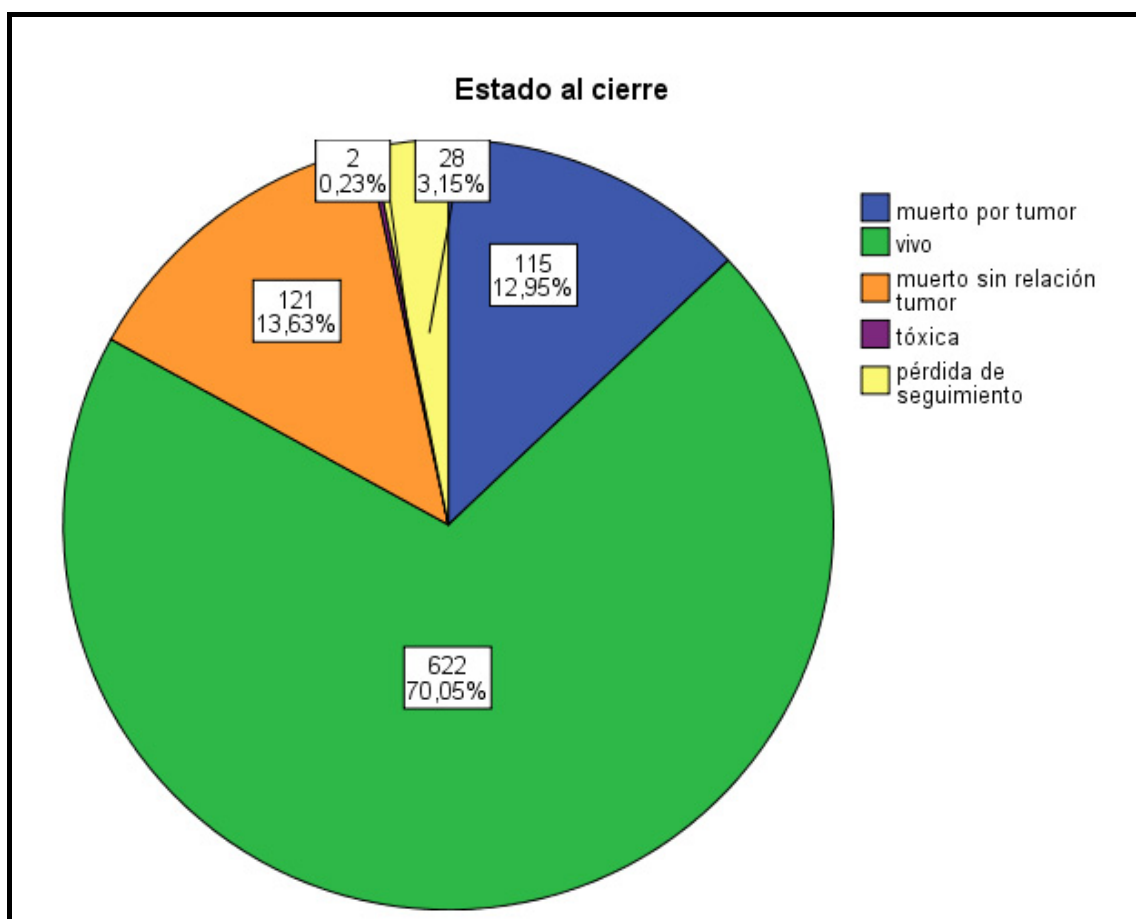


Figura 15. Estado de las pacientes en el momento del análisis

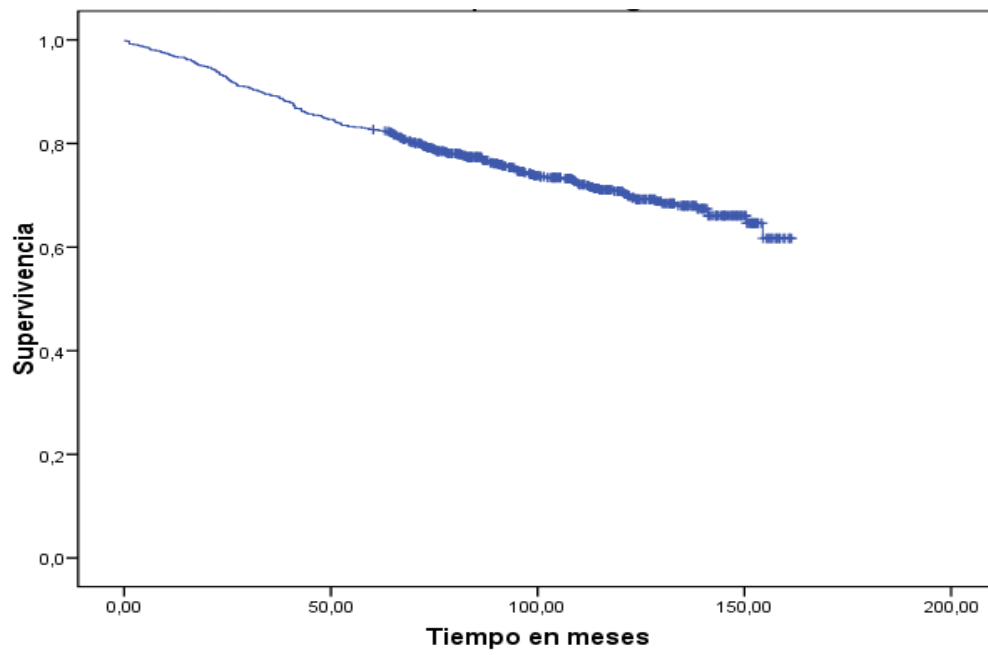


Figura 16. Supervivencia Global de nuestra cohorte de pacientes con Cáncer de Mama

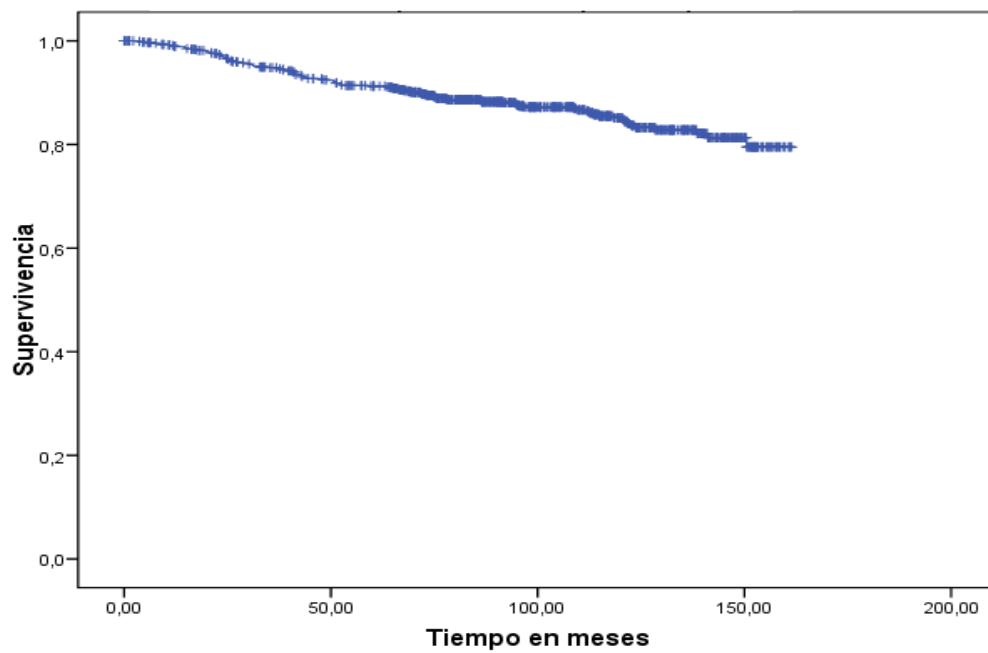


Figura 17. Supervivencia Específica por Cáncer de Mama

5.1.25. RECAÍDA

En el momento del análisis 711 pacientes (80.07%) se mantenían libres de recaída, 162 (18.24%) habían recidivado y en 15 pacientes (1.69%) no fue posible verificar este punto en la historia clínica (Figuras 18 y 19).

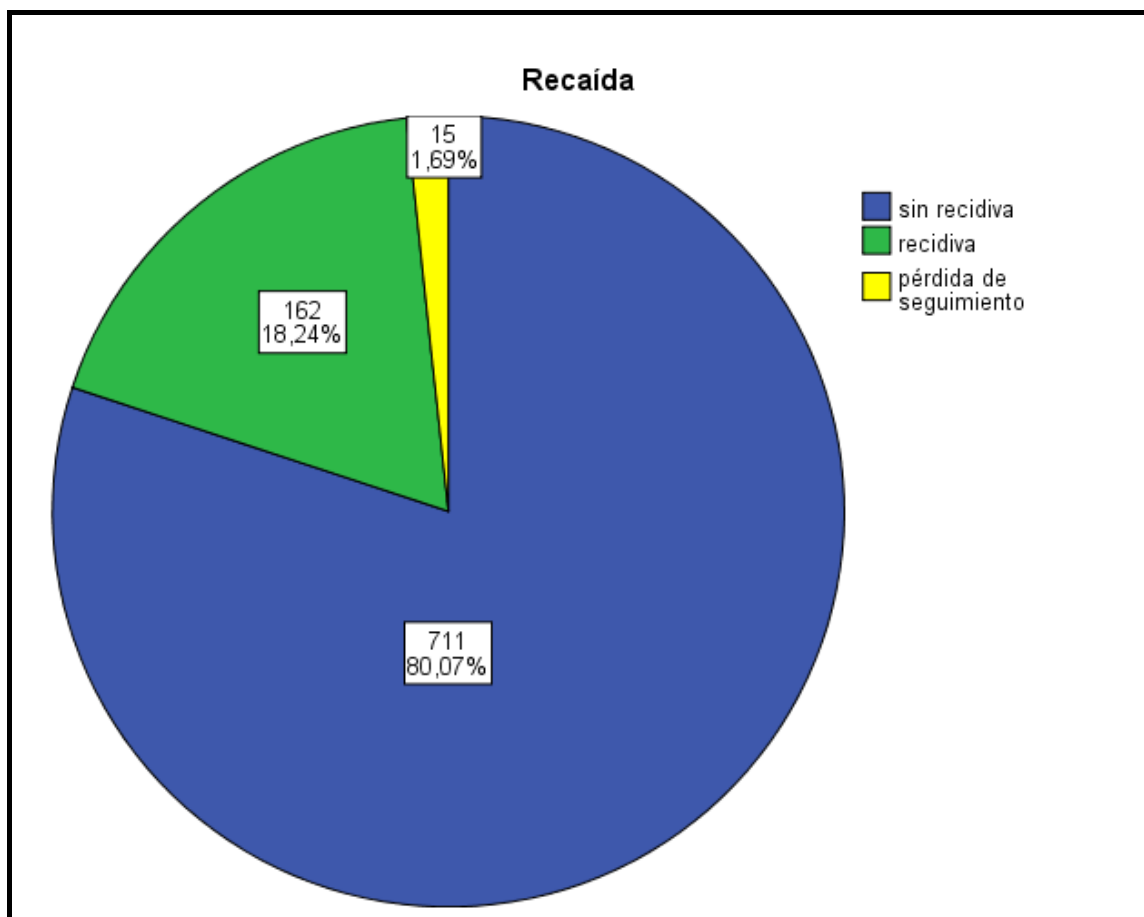


Figura 18. Estado de la enfermedad en las pacientes en el momento del análisis

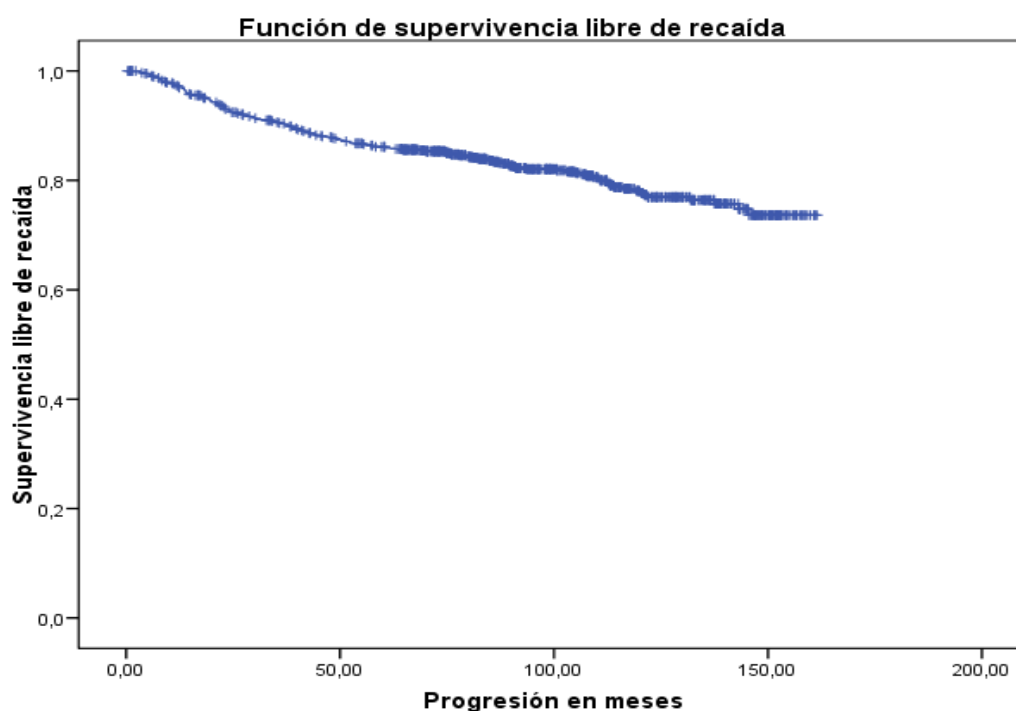


Figura 19. Supervivencia Libre de Recaída de Cáncer de Mama

5.1.26. LUGAR DE RECAÍDA

La distribución de las recaídas fue la siguiente: Sistémica (pulmón/ hígado) en 60 casos (6.76%), loco-regional (mama y ganglios regionales) en 31 (3.49%), hueso en 28 (3.15%), múltiple (múltiples localizaciones simultáneas viscerales y óseas) en 27 (3.04%), mama contralateral en 8 (0.90%) y SNC en 7 casos (0.79%) (Figura 20).

En 16 casos (1.80%) el lugar de recaída no se pudo determinar.

Lugar de recaída

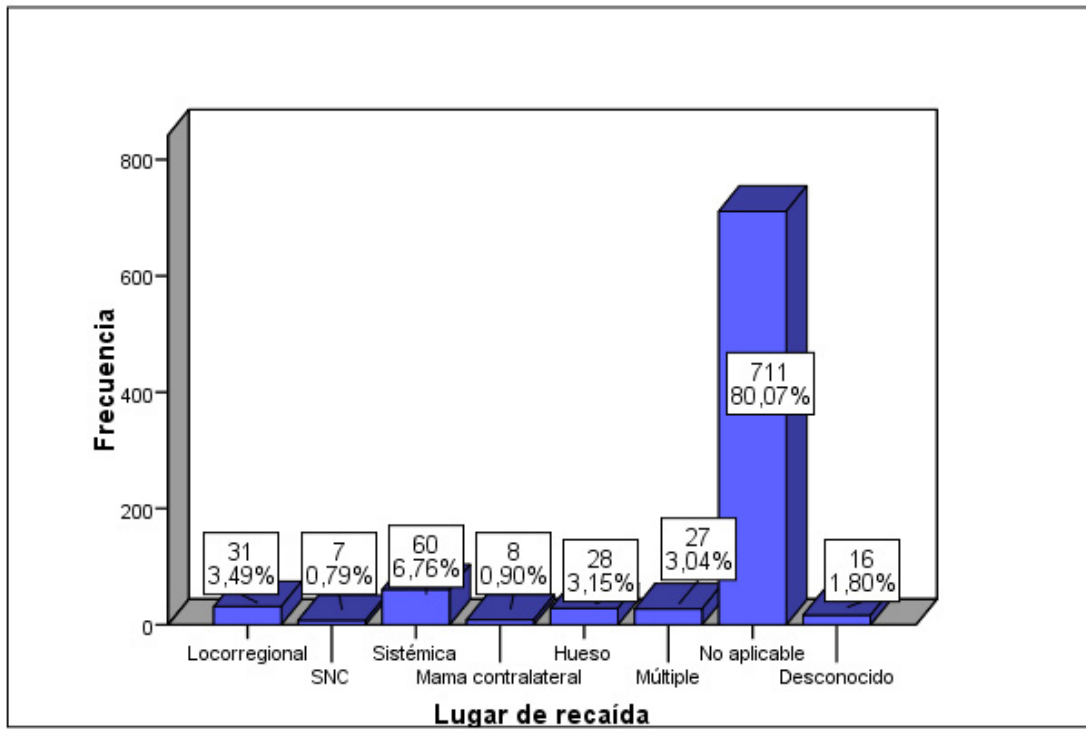


Figura 20. Lugar de recaída de las pacientes en el momento del análisis

5.2. ANÁLISIS DESCRIPTIVO POR SUBTIPOS TUMORALES

Analizamos las características de la muestra según su distribución por subtipos tumorales.

5.2.1. CARACTERÍSTICAS SEGÚN LOS DIFERENTES SUBTIPOS TUMORALES

Se han recogido diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes subtipos que detallamos:

Con respecto a la edad observamos que los subtipos Luminal B, Erb-B2 y Triple Negativo son más frecuentes en las mujeres menores de 40 años. El Luminal A se presenta en mayor porcentaje en pacientes mayores de 60 años (Tabla 18 y Figura 21).

	Luminal A (LA), n (%)	Luminal B (LB), n (%)	Erb-B2 n (%)	Triple Negativo, (TN), n (%)	No Clasificable, n (%)	p
EDAD						<0.001
< 40	13 (22)	26 (44.1)	3 (5.1)	9 (15.3)	8 (13.6)	
40-60	128 (39.9)	76 (23.7)	9 (2.8)	41 (12.8)	67 (20.9)	
>= 60	219 (43.1)	92 (18.1)	14 (2.8)	50 (9.8)	133 (26.2)	
LATERALIDAD						0.946
Derecha	175 (48.6)	93 (47.9)	12 (46.2)	48 (48)	97 (46.6)	
Izquierda	178 (49.5)	98 (50.6)	14 (53.8)	52 (52)	107 (51.5)	
Bilateral	7 (1.9)	3 (1.5)	0 (0)	0 (0)	4 (1.9)	

Tabla 18. Distribución de la muestra por subtipos tumorales: Edad y Lateralidad.

Sin embargo en todos los segmentos etarios se observa preponderancia del subtipo Luminal A, salvo en menores de 40 años, al igual que globalmente.

No hay diferencias en cuanto a la lateralidad entre los 4 subtipos.

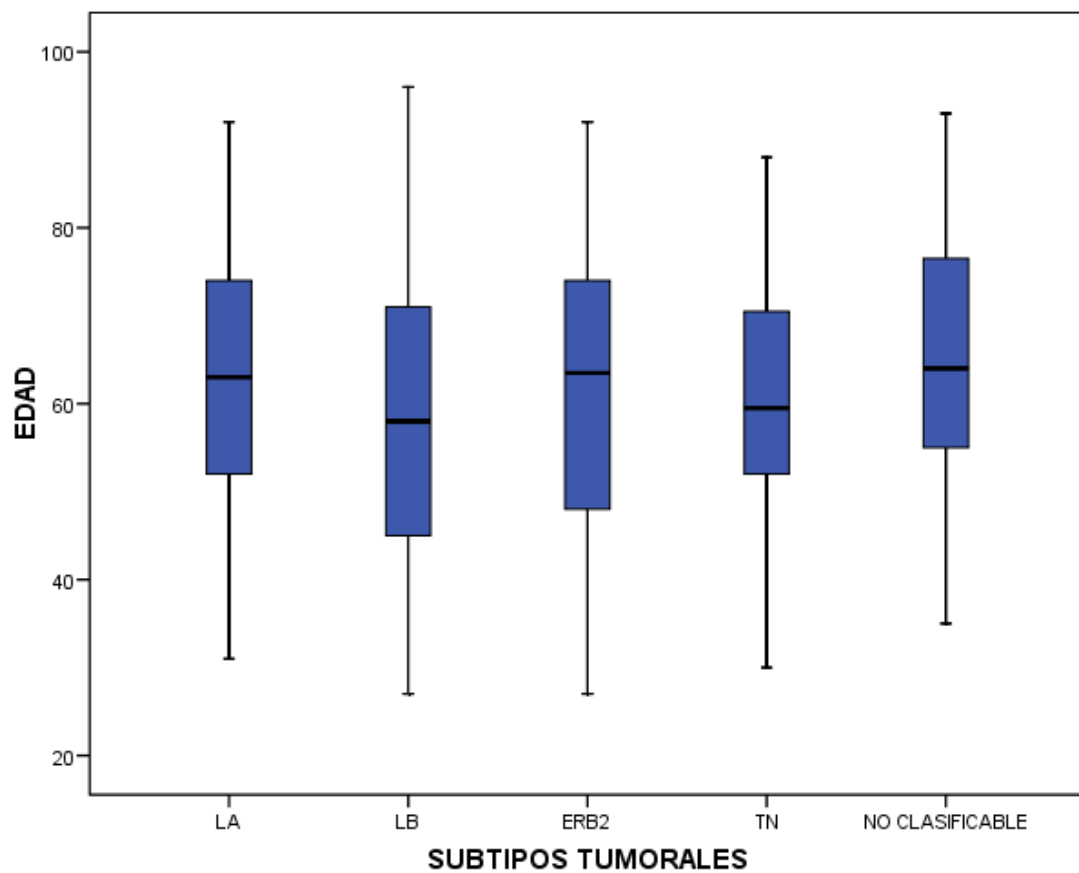


Figura 21. Diagrama de cajas relacionando Edad (medianas de edad) y Subtipos Tumorales

La forma más frecuente de presentación clínica en los Luminales A y B y Triple Negativos es como tumores localizados sin afectación ganglionar. Al contrario sucede en los Erb-B2 dónde casi 2/3 presentan afectación ganglionar de inicio. El subtipo Luminal A es en el que menos se observan tumores localmente avanzados (Tabla 19).

	Luminal A (LA), n (%)	Luminal B (LB), n (%)	Erb-B2 n (%)	Triple Negativo, (TN), n (%)	No Clasificable, n (%)	p
ESTADO INICIO						<0.001
Local sin Ganglios	207 (57.5)	89 (45.9)	6 (23.1)	53 (53)	114 (54.8)	
Extensión directa	11 (3.2)	3 (1.5)	1 (3.8)	2 (2)	12 (5.8)	
Afectación Ganglionar	117 (32.5)	68 (35.1)	15 (57.7)	33 (33)	55 (26.4)	
Extensión directa y Afectación Ganglionar	24 (6.8)	34 (17.5)	4 (15.4)	12 (12)	23 (11.0)	

Tabla 19. Distribución de la muestra por subtipos tumorales: Estado al diagnóstico inicial

En cuanto a la histología, el carcinoma ductal infiltrante es el más frecuente en todos los grupos. El carcinoma medular se presenta fundamentalmente en los subtipos Erb-B2 y Triple Negativo. Los carcinomas tubular y mucinoso y el lobulillar infiltrante se observan predominantemente en el Luminal A (Tabla 20).

	Luminal A (LA), n (%)	Luminal B (LB), n (%)	Erb-B2 n (%)	Triple Negativo, (TN), n (%)	No Clasificable, n (%)	p
HISTOLOGÍA						<0.001
Ca. Papilar	6 (1.7)	3 (1.5)	0 (0)	0 (0)	6 (2.9)	
Ca. Mucinoso	9 (2.5)	3 (1.5)	0 (0)	0 (0)	7 (3.4)	
Ca. Apocrino	0 (0)	0 (0)	1 (3.8)	0 (0)	0 (0)	
Ca. Adenoide- Quístico	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
Ca. Medular	1 (0.3)	2 (1)	3 (11.5)	7 (7)	3 (1.4)	
Carcinoma *	1 (0.3)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	2 (1)	
Ca. Tubular	15 (4.2)	1 (0.5)	0 (0)	2 (2)	4 (1.9)	
Ca. Ductal Infiltrante	291 (80.8)	174 (89.7)	22 (84.6)	86 (86)	170 (81.7)	
Ca. Lobulillar Infiltrante	37 (10.3)	11 (5.7)	0 (0)	3 (3)	16 (7.7)	

Tabla 20. Distribución de la muestra por subtipos tumorales: Histología

En la cohorte global se observan más fallecimientos en este orden jerárquico: Erb-B2, Triple Negativo, Luminal B y Luminal A.

La mortalidad específica por cáncer de mama se superpone claramente a la mortalidad global. Sin embargo, el número de pacientes fallecidas por otras causas no relacionadas con el tumor es mayor en el grupo Luminal A.

Las recidivas también siguen una distribución por subtipos similar a la de la muerte por cáncer de mama (Tabla 21).

	Luminal A (LA), n (%)	Luminal B (LB), n (%)	Erb-B2 n (%)	Triple Negativo, (TN), n (%)	No Clasificable, n (%)	p
ESTATUS						<0.001
Vivo	275 (76.4)	138 (71.1)	17 (65.4)	70 (70.0)	122 (58.7)	
Muerto	72 (20.0)	51 (26.3)	9 (34.6)	28 (28.0)	78 (37.5)	
Desconocido	13 (3.6)	5 (2.6)	0 (0)	2 (2.0)	8 (3.8)	
ESTADO AL CIERRE						<0.001
Muerto- Tumor	18 (5.0)	36 (18.6)	7 (26.9)	20 (20.0)	34 (16.3)	
Vivo	275 (76.4)	138 (71.1)	17 (65.4)	70 (70.0)	122 (58.7)	
Muerto- Otras	53 (14.7)	15 (7.7)	2 (7.7)	8 (8.0)	43 (20.7)	
Tóxica	1 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	
Desconocido	13 (3.6)	5 (2.6)	0 (0.0)	2 (2.0)	8 (3.8)	
RECAÍDA						
Sin Recidiva	317 (88.1)	147 (75.8)	16 (61.5)	70 (70.0)	161 (77.4)	<0.001
Recidiva	36 (10.0)	46 (23.7)	10 (38.5)	29 (29.0)	41 (19.7)	
Desconocido	7 (1.9)	1 (0.5)	0 (0)	1 (1.0)	6 (2.9)	

Tabla 21. Distribución de la muestra por subtipos tumorales: Estatus, Estado al cierre y Recaída

Cualquier tipo de recaída es más frecuente en el grupo Erb-B2, excepto la recaída ósea, que es similar en presentación en el subtipo Erb-B2 y ambos subtipos Luminales asociados, y la recaída en SNC, que se observa característicamente en el subtipo Triple Negativo. La recaída sistémica (visceral) es la más observada en todos los grupos, no obstante con mucha mayor frecuencia de presentación en Erb-B2 y Triple Negativo (Tabla 22).

	Luminal A (LA), n (%)	Luminal B (LB), n (%)	Erb-B2 n (%)	Triple Negativo, (TN), n (%)	No Clasificable, n (%)	p
LUGAR DE RECAÍDA						<0.001
Loco-regional	4 (1.1)	7 (3.6)	3 (11.5)	7 (7)	10 (4.8)	
SNC	0 (0)	2 (1)	0 (0)	3 (3)	2 (1)	
Sistémica	15 (4.2)	17 (8.8)	4 (15.4)	12 (12)	12 (5.8)	
Mama Contralateral	3 (0.8)	1 (0.5)	0 (0)	2 (2)	2 (1)	
Hueso	7 (1.9)	11 (5.7)	2 (7.7)	2 (2)	6 (2.9)	
Múltiple	7 (1.9)	8 (4.1)	1 (3.8)	3 (3)	8 (3.8)	
Desconocida	7 (1.9)	1 (0.5)	0 (0)	1 (1)	7 (3.4)	
No Aplicable	317 (88.2)	147 (75.8)	16 (61.6)	70 (70)	161 (77.3)	

Tabla 22. Distribución de la muestra por subtipos tumorales: Lugar de Recaída

5.2.2. DESCRIPTIVO DE LA COMBINACIÓN DE FACTORES PRONÓSTICOS CLÁSICOS Y AUXILIARES CON SUBTIPOS TUMORALES

En el análisis descriptivo hemos valorado la correlación que los diferentes factores pronósticos clásicos y auxiliares tienen con los subtipos tumorales.

Globalmente predominan los tumores T1 y T2 en todos los grupos. El tamaño tumoral T1 (menor o igual a 2 cm) se asocia con mayor frecuencia al subtipo Luminal A. Los tumores de mayores dimensiones se corresponden con el subtipo Erb-B2.

La ausencia de afectación ganglionar patológica se observa fundamentalmente en los grupos Luminal A y Triple Negativo, encontrándose en más de la mitad de los casos. Por el contrario, en el 80% de los tumores Erb-B2 se ha visto afectación adenopática y en más del 40% de ellos invasión de más de 10 ganglios.

Los tumores más indiferenciados se encuentran en los subtipos Erb-B2 (el 70% presentan grado III) y Triple Negativo (en casi 2/3 partes se observa grado III). A la inversa, la mayoría de los tumores muy diferenciados corresponden al grupo Luminal A. De estos únicamente el 9% se revelan como indiferenciados (Tabla 23).

	Luminal A (LA), n (%)	Luminal B (LB), n (%)	Erb-B2 n (%)	Triple Negativo, (TN), n (%)	No Clasificable, n (%)	p
Tamaño (T)						<0.001
T1	206 (57.2)	79 (40.7)	7 (26.9)	46 (46)	103 (49.5)	
T2	127 (35.2)	88 (45.4)	10 (38.5)	42 (42)	69 (33.2)	
T3	15 (4.2)	19 (9.8)	3 (11.5)	6 (6)	17 (8.2)	
T4	11 (3.1)	8 (4.1)	5 (19.2)	5 (5)	13 (6.3)	
Desconocido	1 (0.3)	0 (0)	1 (3.9)	1 (1)	6 (2.8)	
Afectación Ganglionar (N)						<0.001
N0	204 (56.7)	87 (44.8)	5 (19.2)	52 (52)	105 (50.5)	
N1	97 (26.9)	71 (36.6)	8 (30.8)	32 (32)	52 (25)	
N2	43 (11.9)	32 (16.5)	11 (42.3)	13 (13)	23 (11.1)	
Desconocido	16 (4.5)	4 (2.1)	2 (7.7)	3 (3)	28 (13.5)	
Grado de Diferenciación						<0.001
I	126 (35)	25 (12.9)	1 (3.8)	8 (8)	48 (23.1)	
II	168 (46.7)	83 (42.8)	2 (7.7)	25 (25)	65 (31.3)	
III	32 (8.9)	72 (37.1)	18 (69.2)	58 (58)	52 (25)	
Desconocido	34 (9.4)	14 (7.2)	5 (19.3)	9 (9)	43 (20.6)	

Tabla 23. Correlación de Factores Pronósticos y Subtipos Tumorales: Tamaño, Afectación Ganglionar y Grado de Diferenciación.

Un gran porcentaje de tumores Erb-B2 y Triple negativo presentan mutación de p53. La inmensa mayoría de los Luminales A no la exhiben, al igual que casi el 73% de los Luminales B.

Los receptores de Estrógenos presentan muy alto nivel de expresión en ambos tipos Luminales A y B. Los receptores de Progesterona se manifiestan con mayor frecuencia en el subtipo Luminal A (alrededor de un 10% más).

La expresión de la proteína Her2-neu se visualiza, obviamente, en todos los tumores Erb-B2, pero también en 2/3 partes de los Luminales B (Tabla 24).

	Luminal A (LA), n (%)	Luminal B (LB), n (%)	Erb-B2 n (%)	Triple Negativo, (TN), n (%)	No Clasificable, n (%)	p
p 53						<0.001
Negativo	346 (96.1)	141 (72.7)	8 (30.8)	38 (38)	11 (5.3)	
Positivo	10 (2.8)	44 (22.7)	14 (53.8)	40 (40)	1 (0.5)	
Desconocido	4 (1.1)	9 (4.6)	4 (15.4)	22 (22)	196 (94.2)	
Receptores de Progesterona(RP)						<0.001
Negativo	118 (32.8)	81 (41.8)	26 (100)	100 (100)	56 (26.9)	
Positivo	242 (67.2)	112 (57.7)	0 (0)	0 (0)	102 (49.1)	
Desconocido	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	50 (24)	
Receptores de Estrógeno (RE)						<0.001
Negativo	8 (2.2)	8 (4.1)	26 (100)	100 (100)	36 (17.3)	
Positivo	352 (97.8)	186 (95.9)	0 (0)	0 (0)	128 (61.5)	
Desconocido	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	44 (21.2)	
Her2-neu						<0.001
Negativo	360 (100)	123 (63.4)	0 (0)	100 (100)	13 (6.3)	
Positivo	0 (0)	66 (34)	26 (100)	0 (0)	0 (0)	
Desconocido	0 (0)	5 (2.6)	0 (0)	0 (0)	195 (93.7)	

Tabla 24. Correlación de Factores Pronósticos y Subtipos Tumorales: Expresión de p53, RE, RP y Her2-neu

Altos niveles de expresión de Ki-67 (> 15%) se observan en los subtipos Luminal B, Erb-B2 y Triple Negativo. Por definición, todos los Luminales A presentan un Ki-67 bajo (Tabla 25).

	Luminal A (LA), n (%)	Luminal B (LB), n (%)	Erb-B2 n (%)	Triple Negativo, (TN), n (%)	No Clasificable, n (%)	p
Ki-67						<0.001
Bajo	360 (100)	30 (15.5)	2 (7.7)	14 (14)	4 (1.9)	
Alto	0 (0)	161 (83)	21 (80.8)	61 (61)	1 (0.5)	
Desconocido	0 (0)	3 (1.5)	3 (11.5)	25 (25)	203 (97.6)	

Tabla 25. Correlación de Factores Pronósticos y Subtipos Tumorales: Expresión de Ki-67

5.2.3. DESCRIPTIVO DE LA COMBINACIÓN DE TRATAMIENTOS RECIBIDOS Y SUBTIPOS TUMORALES

Con respecto a los tratamientos recibidos se recoge, de forma significativa:

Mayor frecuencia de realización de mastectomías radicales en el subtipo Erb-B2 y mayor proporción de cirugía conservadora y biopsia selectiva de ganglio centinela en el Luminal A. Con todo, la técnica de abordaje de la axila que más se observa es la linfadenectomía axilar en todos los grupos (Tabla 26).

	Luminal A (LA), n (%)	Luminal B (LB), n (%)	Erb-B2 n (%)	Triple Negativo, (TN), n (%)	No Clasificable, n (%)	p
Cirugía						0.010
MRM	158 (43.9)	103 (53.1)	17 (65.4)	50 (50)	113 (54.3)	
M. Conservadora	201 (55.8)	91 (46.9)	9 (34.6)	50 (50)	82 (39.4)	
Desconocida	1 (0.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	13 (6.3)	
Disección Axilar						0.011
G. Centinela	25 (6.9)	8 (4.1)	1 (3.8)	3 (3)	1 (0.5)	
Linfadenectomía	310 (86.1)	179 (92.3)	24 (92.3)	93 (93)	174 (83.7)	
Desconocida	25 (6.9)	7 (3.6)	1 (3.8)	4 (4)	33 (15.9)	
Radioterapia						0.018
No	132 (36.7)	65 (33.5)	7 (26.9)	34 (34)	97 (46.6)	
Sí	226 (62.8)	128 (66)	19 (73.1)	65 (65)	106 (51)	
Desconocido	2 (0.6)	1 (0.5)	0 (0)	1 (1)	5 (2.4)	

Tabla 26. Correlación de tratamiento recibido y Subtipos Tumorales: Cirugía, Disección axilar y Radioterapia

Reciben Radioterapia más de 2/3 partes de las pacientes de los subtipos Luminal A, Luminal B y Triple Negativo. Discretamente mayor magnitud de enfermas la reciben en el subtipo Erb-B2. En 9 pacientes desconocemos este dato (Tabla 20).

No reciben Quimioterapia más de la mitad de las pacientes Luminales A. Sí la reciben una gran proporción de enfermas de los grupos Luminales B y Triple Negativo y la gran mayoría de las Erb-B2 (Tabla 27 y Figura 22).

	Luminal A (LA), n (%)	Luminal B (LB), n (%)	Erb-B2 n (%)	Triple Neg (TN), n(%)	No Clasif. n (%)	p
Quimioterapia(QT)						<0.001
No	193 (53.6)	51 (26.3)	4 (15.4)	21 (21)	104 (50)	
Sí	165 (45.8)	141 (72.7)	22 (84.6)	78 (78)	99 (47.6)	
Desconocido	2 (0.6)	2 (1)	0 (0)	1 (1)	5 (2.4)	
Tipo de QT						<0.001
No	193 (53.6)	51 (26.3)	4 (15.4)	21 (21)	104 (50)	
CMF	68 (18.9)	48 (24.7)	6 (23.1)	30 (30)	47 (22.6)	
Antraciclina	68 (18.9)	68 (35.1)	13 (50)	39 (39)	46 (22.1)	
Antrac + Taxano	25 (6.9)	25 (12.9)	3 (11.5)	9 (9)	6 (2.9)	
Otras Comb	2 (0.6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Desconocido	4 (1.1)	2 (1)	0 (0)	1 (1)	5 (2.4)	

Tabla 27. Correlación de tratamiento recibido y Subtipos Tumorales: Quimioterapia y Tipo

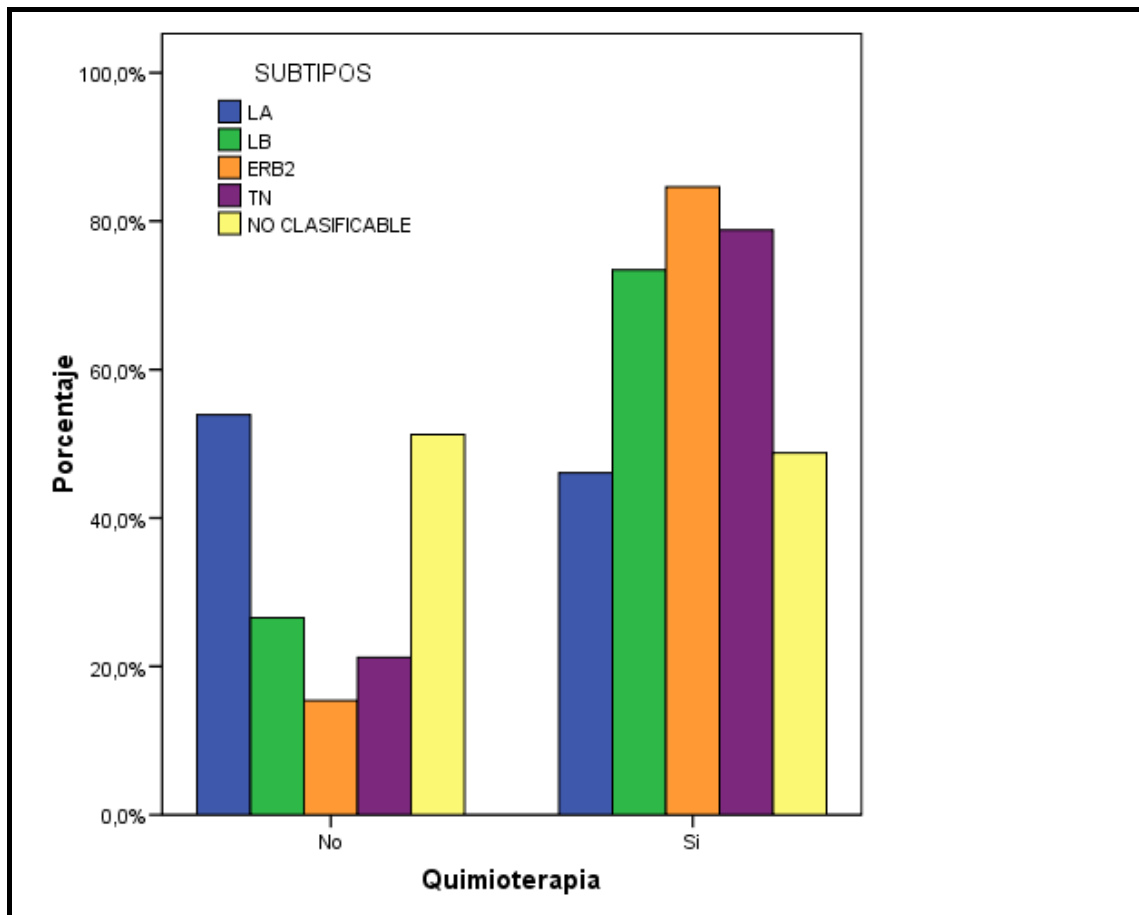


Figura 22. Distribución del uso de Quimioterapia según Subtipos Tumorales

En el grupo Luminal A reciben igualmente esquemas de quimioterapia tipo CMF y esquemas con antraciclinas, es excepcional el uso de taxanos. El régimen más utilizado en el resto de los grupos es el basado en antraciclinas, hasta en la mitad de los casos en el subtipo Erb-B2. En poco más del 10% se utilizan taxanos, en similar proporción en Luminal B y Triple Negativo. En un pequeño porcentaje de pacientes se desconocía el tratamiento quimioterápico que habían recibido (Tabla 27 y Figura 23).

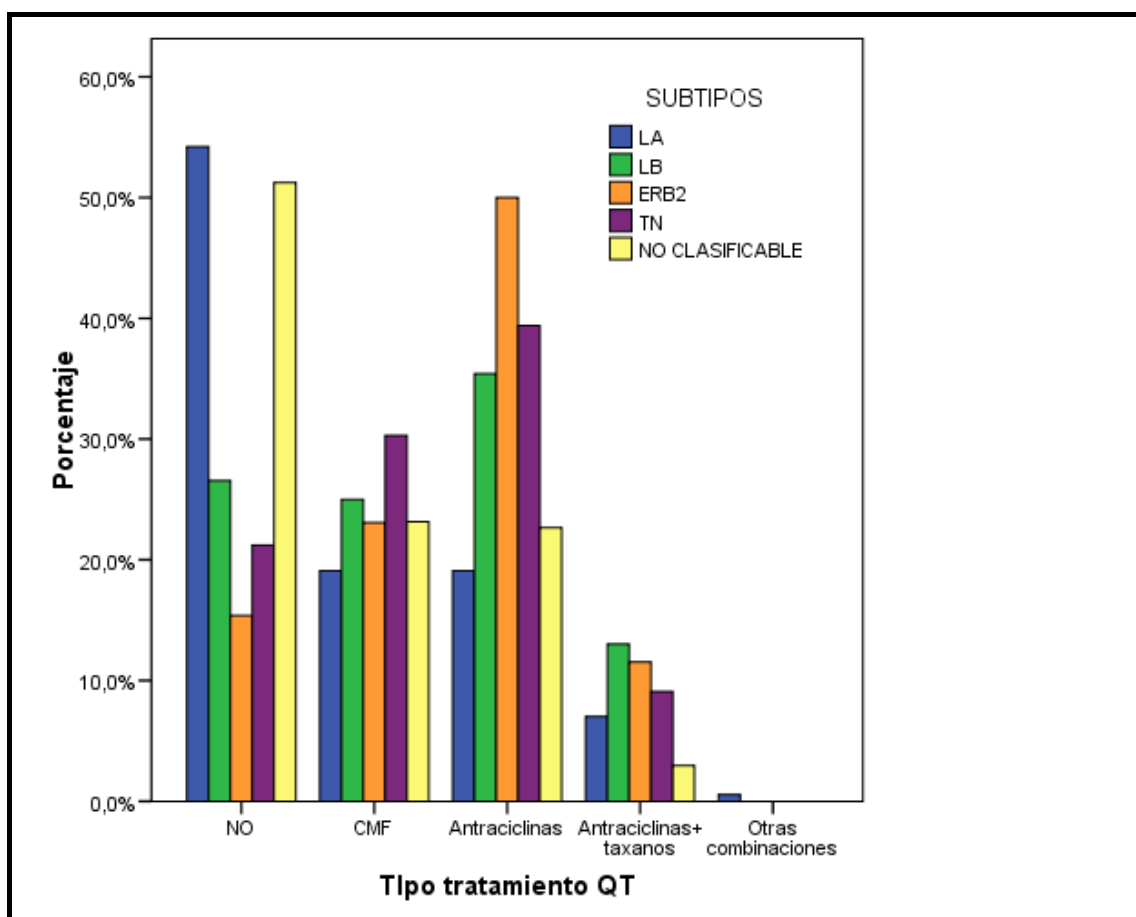


Figura 23. Distribución del Tipo Quimioterapia usado según Subtipos Tumoraes

La intensidad de dosis fue similar en los todos los subtipos.

	Luminal A (LA), n (%)	Luminal B (LB), n (%)	Erb-B2 n (%)	Triple Negativo, (TN), n (%)	No Clasificable, n (%)	p
Intensidad de Dosis QT						<0.001
No aplicable	191 (53.1)	51 (26.3)	3 (11.5)	20 (20)	103 (49.5)	
< 85%	35 (9.7)	20 (10.3)	6 (23.1)	16 (16)	22 (10.6)	
>/= 85%	128 (35.6)	120 (61.9)	16 (61.5)	60 (60)	76 (36.5)	
Desconocido	6 (1.7)	3 (1.5)	1 (3.8)	4 (4)	7 (3.4)	
Tratamiento Hormonal						<0.001
No	8 (2.2)	4 (2.1)	24 (92.3)	88 (88)	33 (15.9)	
Tamoxifeno	228 (63.3)	117 (60.3)	2 (7.7)	9 (9)	157 (75.5)	
5 a.						
Inhibidores Aromatasa (IA)	18 (5)	16 (8.2)	0 (0)	1 (1)	4 (1.9)	
Tamox + IA	99 (27.5)	50 (25.8)	0 (0)	1 (1)	7 (3.4)	
Análogo LHRH + Tamox	3 (0.8)	6 (3.1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Desconocido	4 (1.1)	1 (0.5)	0 (0)	1 (1)	7 (3.4)	

Tabla 28. Correlación de tratamiento recibido y Subtipos Tumoraes: Intensidad de Dosis de QT y Hormonoterapia

La terapia hormonal más utilizada fue el Tamoxifeno en monoterapia. Más de una cuarta parte de las pacientes Luminales (A y B) recibieron tratamiento alternante con Tamoxifeno e Inhibidores de la Aromatasa. Sin embargo, un mayor uso de Inhibidores de la Aromatasa aislados se vio en el subtipo Luminal B, al igual que de la combinación de análogos de la LHRH combinados con Tamoxifeno, con respecto al Luminal A. En un pequeño porcentaje de pacientes se desconocía el tratamiento hormonal que habían recibido (Tabla 28).

5.2.4. DESCRIPTIVO DE RECAÍDA POR SUBTIPOS TUMORALES SEGÚN LA AFECTACIÓN GANGLIONAR

En las pacientes sin afectación ganglionar divididas por subtipos tumorales observamos 31 recaídas (8.95%). Ninguna de ellas en el grupo Erb-B2, 8 en el Triple Negativo, 9 en el Luminal A y 14 en el Luminal B, constituyendo este último subtipo el de segundo mayor porcentaje de recaídas, casi similar al del subtipo Triple Negativo (Tabla 29).

	Luminal A (LA) n (%)	Luminal B (LB) n (%)	Erb-B2 n (%)	Triple Negativo, (TN) n (%)	p
GANGLIOS NEGATIVOS					p=0.004
Sin Recidiva	193 (95.50)	73 (83.90)	5 (100)	44 (84.60)	
Recidiva	9 (4.50)	14 (16.10)	0 (0)	8 (15.40)	
Global	202 (100)	87 (100)	5 (100)	52 (100)	
GANGLIOS POSITIVOS					p<0.001
Sin Recidiva	112 (81.20)	70 (68.60)	9 (47.40)	23 (52.30)	
Recidiva	26 (18.80)	32 (31.40)	10 (52.60)	21 (47.70)	
Global	138 (100)	102 (100)	19 (100)	44 (100)	

Tabla 19. Descriptivo de recaída por Subtipos Tumorales según la afectación ganglionar

En las pacientes con afectación ganglionar se observaron 89 recaídas (29.37%). La mayoría de ellas en el grupo Erb-B2, en el 52.30% de los casos. También en el subtipo Triple Negativo próximas a la mitad de las pacientes. En el subgrupo Luminal B en torno a 2/3 partes y en el Luminal A no llegan al 20% (Tabla 29).

5.2.5. DESCRIPTIVO DE MORTALIDAD POR SUBTIPOS TUMORALES SEGÚN LA AFECTACIÓN GANGLIONAR

En las 348 pacientes sin afectación ganglionar divididas por subtipos tumorales observamos 17 muertes (4.88%). Ninguna de ellas en el grupo Erb-B2, 3 en el Luminal A , 5 en el Triple Negativo y 9 en el Luminal B, constituyendo este último subtipo el de mayor porcentaje de muertes, incluso por encima del subtipo TN (Tabla 30).

	Luminal A (LA) n (%)	Luminal B (LB) n (%)	Erb-B2 n (%)	Triple Negativo, (TN) n (%)	p
NO					0.064
Vivas	174 (85.29)	74 (85.06)	5 (100)	44 (84.62)	
Muertas CM	3 (1.47)	9 (10.34)	0 (0.00)	5 (9.61)	
M no CM	22 (10.79)	4 (4.60)	0 (0.00)	2 (3.85)	
M. Tóxica	1 (0.49)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	
Desconocida	4 (1.96)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (1.92)	
Global	204 (100)	87 (100)	5 (100)	52 (100)	

Tabla 30. Descriptivo de Muerte por Subtipos Tumorales sin afectación ganglionar

En las 307 pacientes con afectación ganglionar se observaron 62 muertes (20.19%) por cáncer de mama. La mayoría de ellas en el grupo Erb-B2, en el 36.85% de los casos. También en el subtipo Triple Negativo próximas a 1/3 de las pacientes. En el subgrupo Luminal B en torno a la cuarta parte y en el Luminal A un 10%. Obsérvese que en este último subtipo tumoral se ha encontrado un porcentaje de fallecimientos no relacionado con la neoplasia mayor que el de la muerte por cáncer de mama (tanto con o sin afectación ganglionar axilar) (Tabla 31).

	Luminal A (LA) n (%)	Luminal B (LB) n (%)	Erb-B2 n (%)	Triple Negativo, (TN) n (%)	p
N1-2					0.006
Vivas	93 (66.43)	64(62.13)	11 (57.90)	23 (51.12)	
Muertas CM	14 (10.00)	26 (25.24)	7 (36.85)	15 (33.34)	
M no CM	27 (19.28)	9 (8.74)	1 (5.25)	6 (13.32)	
M. Tóxica	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	
Desconocida	6 (4.29)	4(3.89)	0 (0.00)	1 (2.22)	
Global	140 (100)	103 (100)	19 (100)	45 (100)	

Tabla 31. Descriptivo de Muerte por Subtipos Tumorales con afectación ganglionar

5.2.6. DESCRIPTIVO DE RECAÍDA Y MORTALIDAD EN LUMINAL B SIN AFECTACIÓN GANGLIONAR

En las pacientes sin afectación ganglionar del subgrupo Luminal B observamos un riesgo de recaída y muerte mayor que en el resto de los subtipos, incluso mayor que en el Triple Negativo.

Describimos las características de este grupo en nuestra muestra y la distribución de ciertas variables que puedan justificar diferencias en relación a la recidiva y la muerte de esas pacientes.

De las pacientes que presentan un Ki-67 alto han recidivado casi el 17.70%. Sin embargo de las que se presentan con niveles bajos de Ki-67, únicamente el 9.10% (Tabla 32).

	LuminalB Ki-67 bajo n (%)	LuminalB Ki-67 alto n (%)	p
Sin Recidiva	20 (90.90)	51 (82.30)	p=0.335
Recidiva	2 (9.10)	11 (17.70)	
Global	22 (100)	62 (100)	

Tabla 32. Descriptivo de Recaída en Luminales B sin afectación ganglionar según Ki-67

En cuanto a la expresión de Her2-neu y las recaídas:

Las pacientes que expresan Her2-neu presentan menor porcentaje de recaída en números absolutos que las que no lo expresan (Tabla 33).

	Luminal B Her2-neu negativa n (%)	Luminal B Her2-neu positiva n (%)	p
Sin Recidiva	35 (79.50)	36 (87.80)	p=0.305
Recidiva	9 (20.05)	5 (12.20)	
Global	44 (100)	41 (100)	

Tabla 33. Descriptivo de Recaída en Luminales B sin afectación ganglionar según Her-2-Neu

Analizando la expresión del Receptor de Progesterona y la recaída:

De las pacientes que expresan receptor de progesterona han recaído el 20%, de las que no lo expresan el 10.80% (Tabla 34).

	Luminal B Receptor Progesterona negativo n (%)	Luminal B Receptor Progesterona positivo n (%)	p
Sin Recidiva	33 (89.20)	40 (80.00)	p=0.249
Recidiva	4 (10.80)	10 (20.00)	
Global	37 (100)	50 (100)	

Tabla 34. Descriptivo de Recaída en Luminales B sin afectación ganglionar según R. de Progesterona

Ahora describimos la relación con la mortalidad de la expresión de Ki-67, Her2-neu y del receptor de progesterona:

De las pacientes que presentan un Ki-67 alto han fallecido por cáncer de mama el 12.9%. Sin embargo de las que lo presentan en niveles bajos, únicamente el 4.5% (Tabla 35 y Figura 24).

	Luminal B Ki-67 bajo n (%)	Luminal B Ki-67 alto n (%)	p
Vivas	20 (90.90)	51 (82.30)	p=0.547
Muertas CM	1 (4.50)	8 (12.90)	
M no CM	1 (4.50)	3 (4.80)	
M. Tóxica	0 (0.00)	0 (0.00)	
Desconocida	0 (0.00)	0 (0.00)	
Global	22 (100)	62 (100)	

Tabla 35. Descriptivo de Mortalidad en Luminales B sin afectación ganglionar según Ki-67

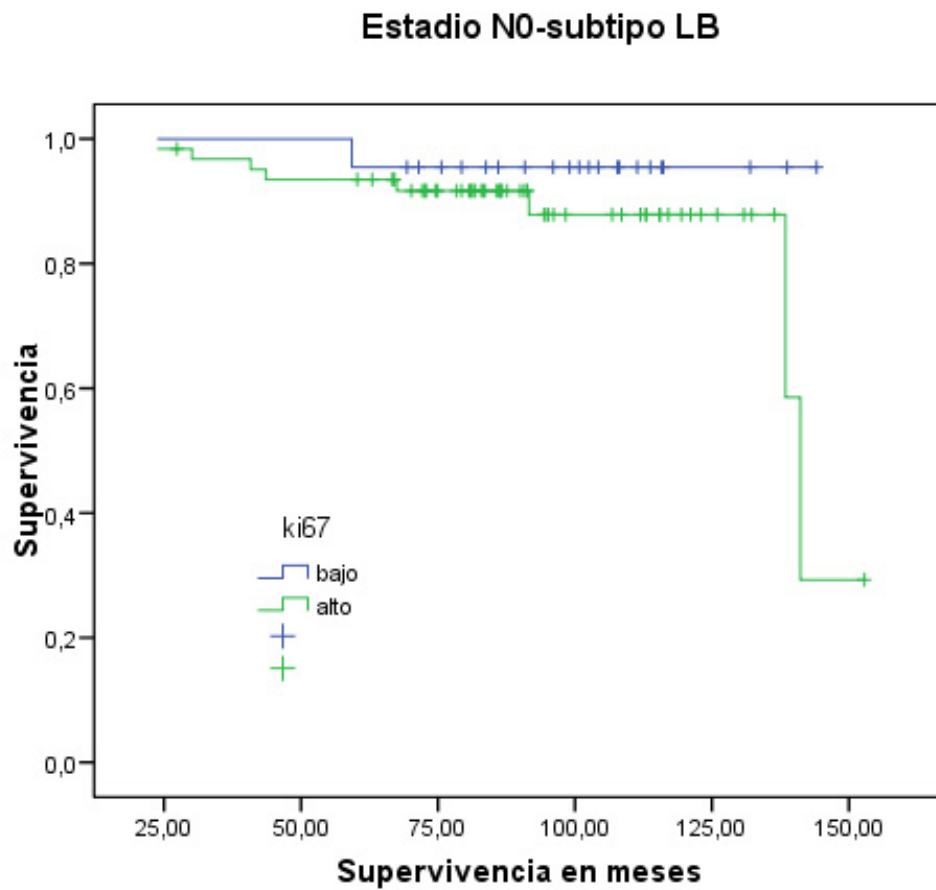


Figura 24. Gráfica de supervivencia en Luminal B N0 según Ki-67

En cuanto a la expresión de Her2-neu y las muertes:

De las pacientes que presentan expresión de Her2-neu han fallecido por cáncer de mama casi el 5%, una proporción menor con respecto a las que no lo expresan (Tabla 36).

	Luminal B Her2-neu negativa n (%)	Luminal B Her2-neu positiva n (%)	p
Vivas	35 (79.50)	37 (90.20)	p=0.255
Muertas CM	7 (15.90)	2 (4.90)	
M no CM	2 (4.50)	2 (4.90)	
M. Tóxica	0 (0.00)	0 (0.00)	
Desconocida	0 (0.00)	0 (0.00)	
Global	42 (100)	39 (100)	

Tabla 36. Descriptivo de Mortalidad en Luminales B sin afectación ganglionar según Her2-neu.

En cuanto a la expresión del receptor de progesterona:

Las pacientes Luminales B sin afectación ganglionar fallecidas por cáncer de mama presentaban similar proporción de expresión y no expresión de receptor de progesterona (Tabla 37).

	Luminal B Receptor Progesterona negativo n (%)	Luminal B Receptor Progesterona positivo n (%)	p
Vivas	31 (83.80)	43 (86.00)	p=0.943
Muertas CM	4 (10.80)	5 (10.00)	
M no CM	2 (5.40)	2 (4.00)	
M. Tóxica	0 (0.00)	0 (0.00)	
Desconocida	0 (0.00)	0 (0.00)	
Global	37 (100)	50 (100)	

Tabla 37. Descriptivo de Mortalidad en Luminales B sin afectación ganglionar según R. de Progesterona

5.2.7. DESCRIPTIVO DE RECAÍDA Y MORTALIDAD EN TUMORES TRIPLE NEGATIVO

En cuanto a la recaída en el grupo Triple Negativo, globalmente se produjeron un 28% de recaídas.

No teniendo en cuenta la diferenciación por afectación ganglionar, de ellas un mayor porcentaje en números absolutos en el subgrupo no Basal-Like (Tabla 38).

En la discusión se aclarará la razón.

	Triple Negativo Basal-Like n (%)	Triple Negativo no Basal-Like n (%)	p
Sin Recidiva	36 (75.00)	28 (63.64)	P=0.237
Recidiva	12 (25.00)	16 (36.36)	
Global	48 (100)	44 (100)	

Tabla 38. Descriptivo de Recaídas en Triple Negativo según Basal-Like/no

Con respecto a los fallecimientos la distribución es la siguiente:

De la misma forma que en anteriormente, sin tener en cuenta la afectación ganglionar, se observan leves diferencias en la mortalidad en números absolutos. Se evidencia mayor porcentaje muertes por cáncer de mama en las pacientes con tumores Basal-Like y más muertes no relacionadas con la neoplasia en el grupo no Basal-Like (22.92% versus 17.78%) (Tabla 39). Esto se refleja en la gráfica de supervivencia específica por cáncer de mama (Figura 25).

	Triple Negativo Basal-Like n (%)	Triple Negativo no Basal-Like n (%)	p
Vivas	33 (68.75)	32 (71.12)	P=0.911
Muertas CM	11(22.92)	8 (17.78)	
M no CM	3(6.25)	4 (8.89)	
M. Tóxica	0 (0.00)	0 (0.00)	
Desconocida	1 (2.08)	1 (2.21)	
Global	48 (100)	45 (100)	

Tabla 39. Descriptivo de Mortalidad en Triple Negativo según Basal-Like/no

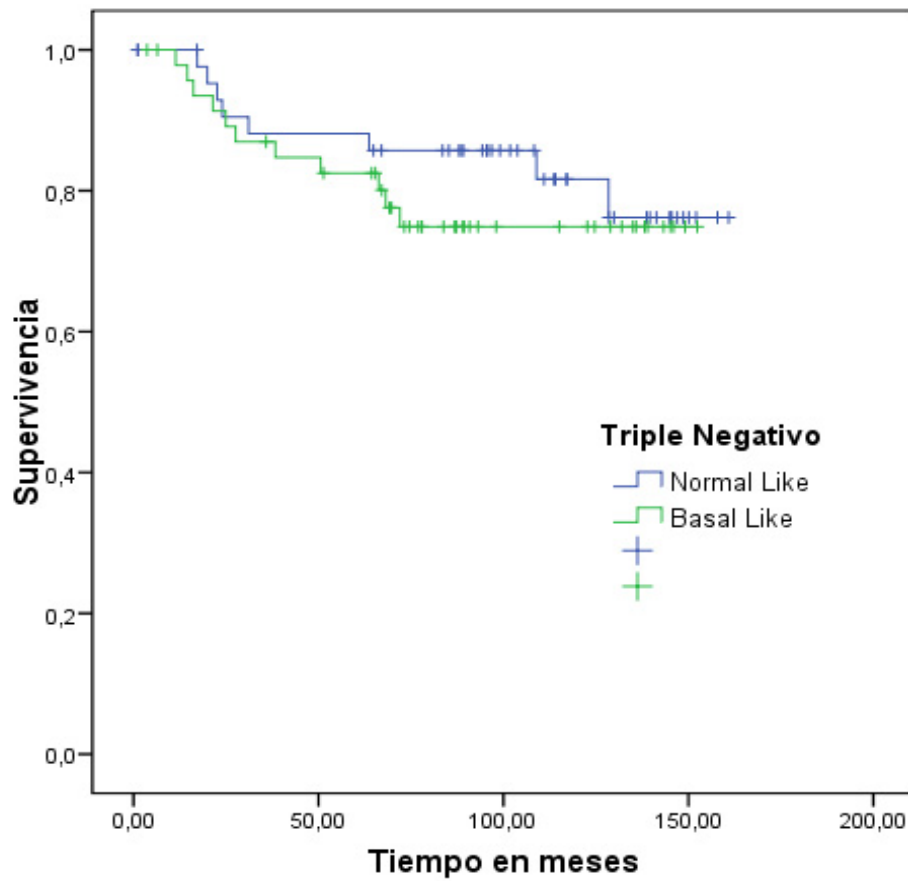


Figura 25. Gráfica de supervivencia específica por CM en Triple Negativo según Basal-like/no

5.2.7.1. DESCRIPTIVO DE RECAÍDA Y MUERTE EN TUMORES TRIPLE NEGATIVO SIN AFECTACIÓN GANGLIONAR

En pacientes con tumores Triple Negativo sin afectación ganglionar observamos las siguientes recaídas:

Mayor frecuencia de recidiva numérica (21.70% versus 12.50 %) en pacientes con tumores Basal-Like sin afectación adenopática axilar (Tabla 40).

	Triple Negativo Basal-Like Ganglios Negativos n (%)	Triple Negativo no Basal-Like Ganglios negativos n (%)	p
Sin Recidiva	18 (78.30)	21(87.50)	p=0.4
Recidiva	5 (21.70)	3 (12.50)	
Global	23 (100)	24 (100)	

Tabla 40. Descriptivo de Recaídas en Triple Negativo sin afectación ganglionar según Basal-Like/no

Con respecto a las muertes en pacientes Triple Negativo sin afectación ganglionar no se observó que ninguna paciente del subgrupo no Basal-Like hubiera fallecido aunque se hayan observado recidivas, sí se encontraron fallecimientos por cáncer de mama en el subtipo Basal-Like ($p=0.049$) (Tabla 41 y Figura 26).

	Triple Negativo Ganglios Negativos Basal-Like n (%)	Triple Negativo Ganglios Negativos no Basal-Like n (%)	p
Vivas	17 (73.91)	23 (95.84)	P=0.049
Muertas por CM	5 (21.74)	0 (0.00)	
Muertas sin relación CM	0 (0.00)	1 (4.16)	
Desconocidas	1 (4.35)	0 (0.00)	
Global	23 (100)	24 (100)	

Tabla 41. Descriptivo de Mortalidad en Triple Negativo sin afectación ganglionar según Basal-Like/no

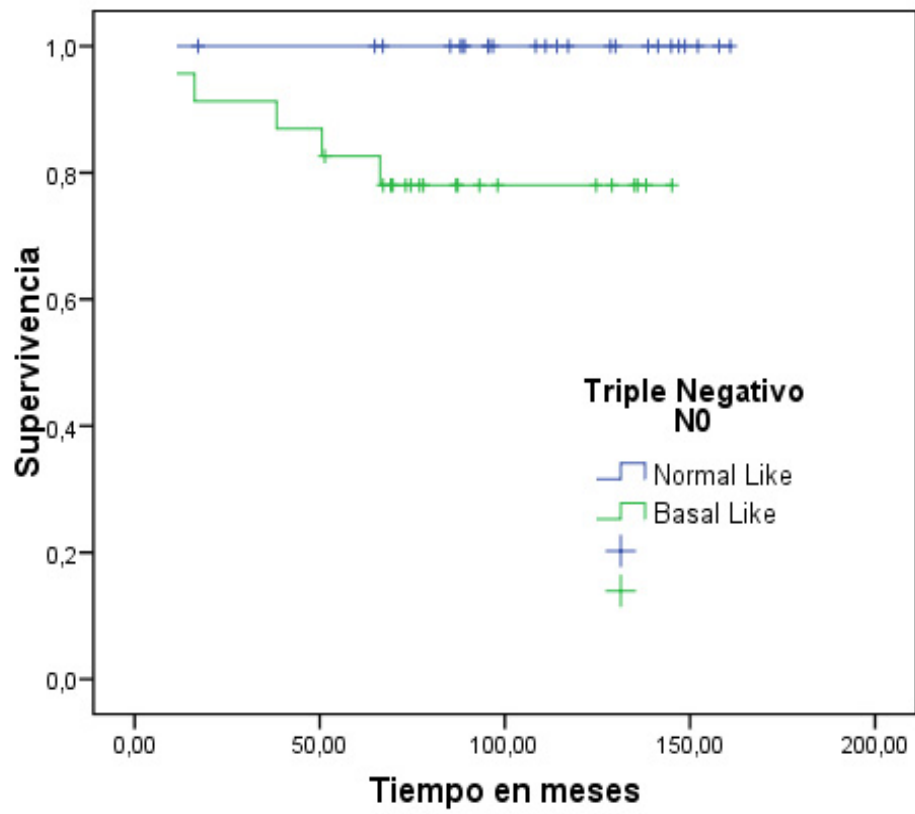


Figura 26. Gráfica de supervivencia en Triple Negativo-N0 según Basal-like/no

5.2.7.2. DESCRIPTIVO DE RECAÍDA Y MUERTE EN TUMORES TRIPLE NEGATIVO CON AFECTACIÓN GANGLIONAR

En pacientes Triple Negativo con afectación ganglionar observamos las siguientes recaídas:

De 23 enfermas Basal-Like han recaído el 30.40%. De 20 enfermas no Basal-Like han recaído el 65% ($p=0.028$) (Tabla 42).

	Triple Negativo Ganglios Positivos Basal-Like n (%)	Triple Negativo Ganglios Positivos no Basal-Like n (%)	p
Sin Recidiva	16 (69.60)	6 (30.00)	$p=0.028$
Recidiva	7 (30.40)	13 (65.00)	
Desconocida	0 (0.00)	1 (5.00)	
Global	23 (100)	20 (100)	

Tabla 42. Descriptivo de Recaídas en Triple Negativo con afectación ganglionar según Basal-Like /no

Con respecto a las muertes en pacientes Triple Negativo con afectación ganglionar:

Se observa que de 23 pacientes Basal-Like han fallecido por cáncer de mama el 26.08%. De las 20 enfermas no Basal-Like o Normal-Like han muerto por cáncer de mama el 40% (Tabla 43 y Figura 27).

	Triple Negativo Ganglios Positivos Basal-Like n (%)	Triple Negativo Ganglios Positivos no Basal-Like n (%)	p
Vivas	14 (60.87)	8 (40.00)	P=0.436
Muertas por CM	6 (26.08)	8 (40.00)	
Muertas sin relación CM	3 (13.05)	3(15.00)	
Desconocidas	0 (0.00)	1 (5.00)	
Global	23 (100)	20 (100)	

Tabla 43. Descriptivo de Mortalidad en Triple Negativo con afectación ganglionar según Basal-Like/no

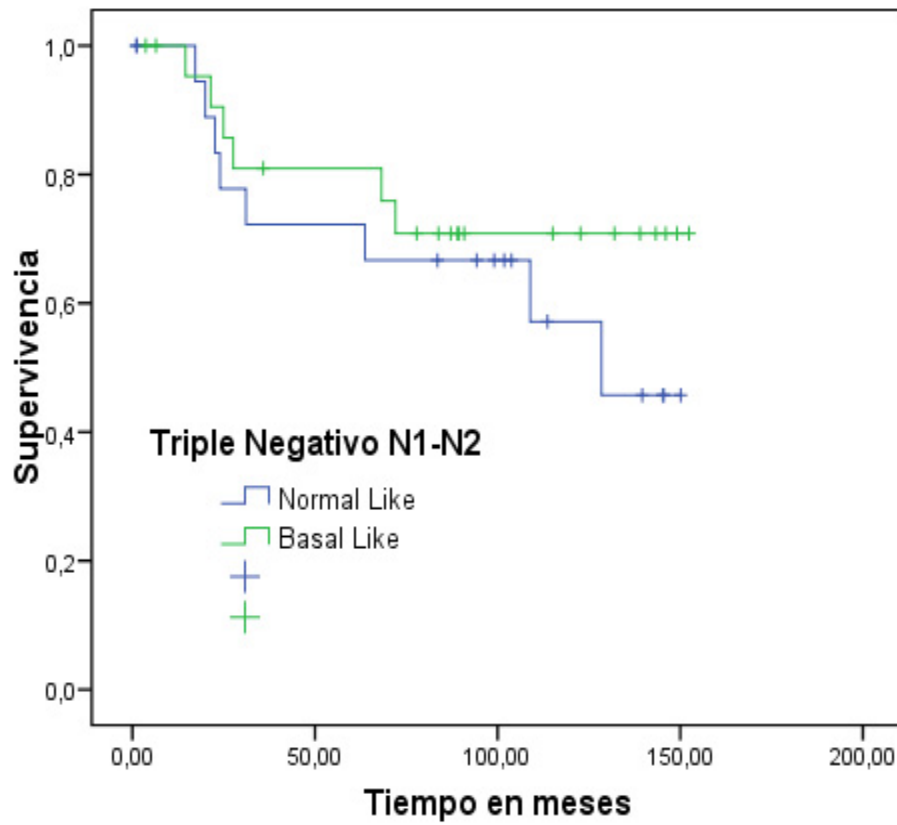


Figura 27. Gráfica de supervivencia en Triple Negativo-N1-2 según Basal-like/no

5.3. IMPACTO DE LOS FACTORES PRONÓSTICOS CLÁSICOS SOBRE LA SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CÁNCER DE MAMA

Para este análisis incluimos los datos de las 888 mujeres de la muestra global.

5.3.1. ANÁLISIS UNIVARIANTE DE LOS FACTORES PRONÓSTICOS CLÁSICOS

Como factores pronósticos clásicos de supervivencia específica por cáncer de mama hemos analizado: la edad, el tamaño tumoral, la afectación ganglionar, el grado de diferenciación tumoral, la expresión de Ki-67, la mutación de p53 y la expresión de receptores de estrógeno, progesterona y Erb-B2.

Describimos inicialmente el resultado del análisis univariante de los mismos (Tabla 44).

Tomando como referencia el segmento etario entre 40-60 años, únicamente se ha revelado como factor pronóstico significativo de muerte por cáncer de mama la edad inferior a 40 años, resultando tener las estas pacientes 1.87 veces más riesgo que las de la edad tomada como referencia ($p=0.05$) (Figura 28 y Tabla 44).

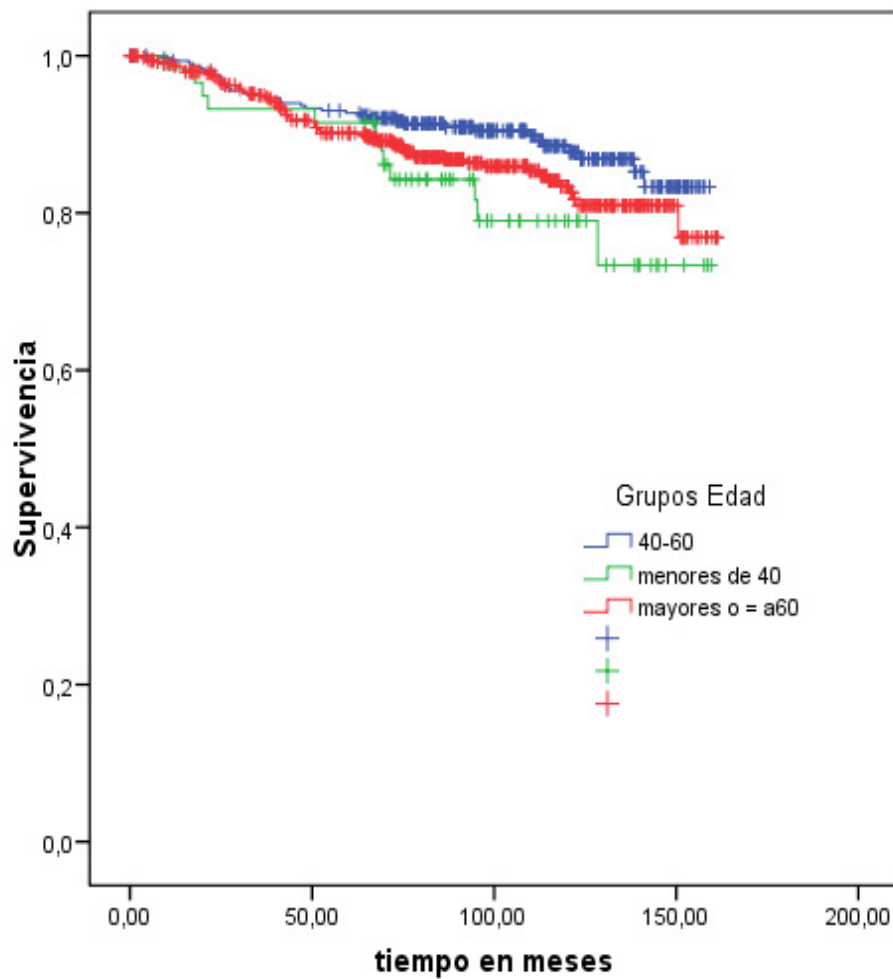


Figura 28. Gráfica de supervivencia específica por Cáncer de Mama según la Edad

Todos los tamaños tumorales son factor pronóstico, resultando tener más riesgo de muerte por cáncer de mama, que los tumores menores de 2 cm tomados como referencia ($p < 0,001$). Los T2 presentan casi 5 veces más riesgo, los T3 casi 11 veces y los T4 casi 18 veces más riesgo que los T1 (Figura 29 y Tabla 44).

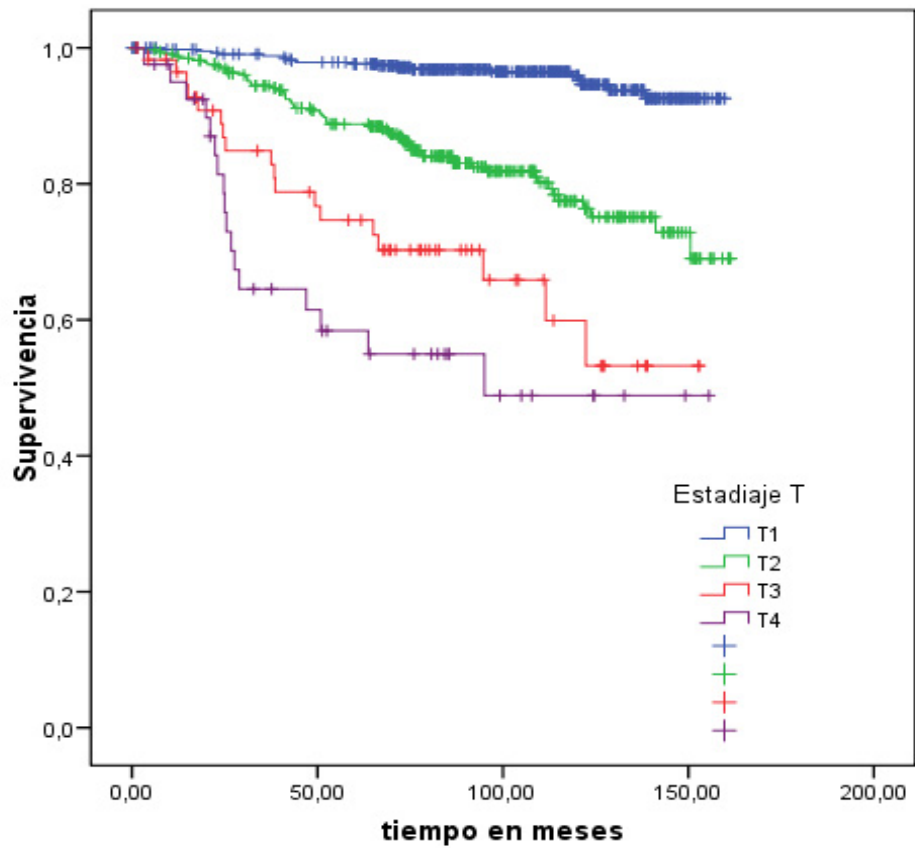


Figura 29. Gráfica de supervivencia específica por Cáncer de Mama según Tamaño Tumoral

La afectación adenopática también constituye un factor pronóstico ($p < 0.001$). Presentar afectación de 1 a 3 ganglios axilares aumenta 2.6 el riesgo de muerte por cáncer de mama respecto a no tener afectación ganglionar. Presentar entre 4 y 10 ganglios eleva el riesgo casi 8 veces más (Figura 30 y Tabla 44).

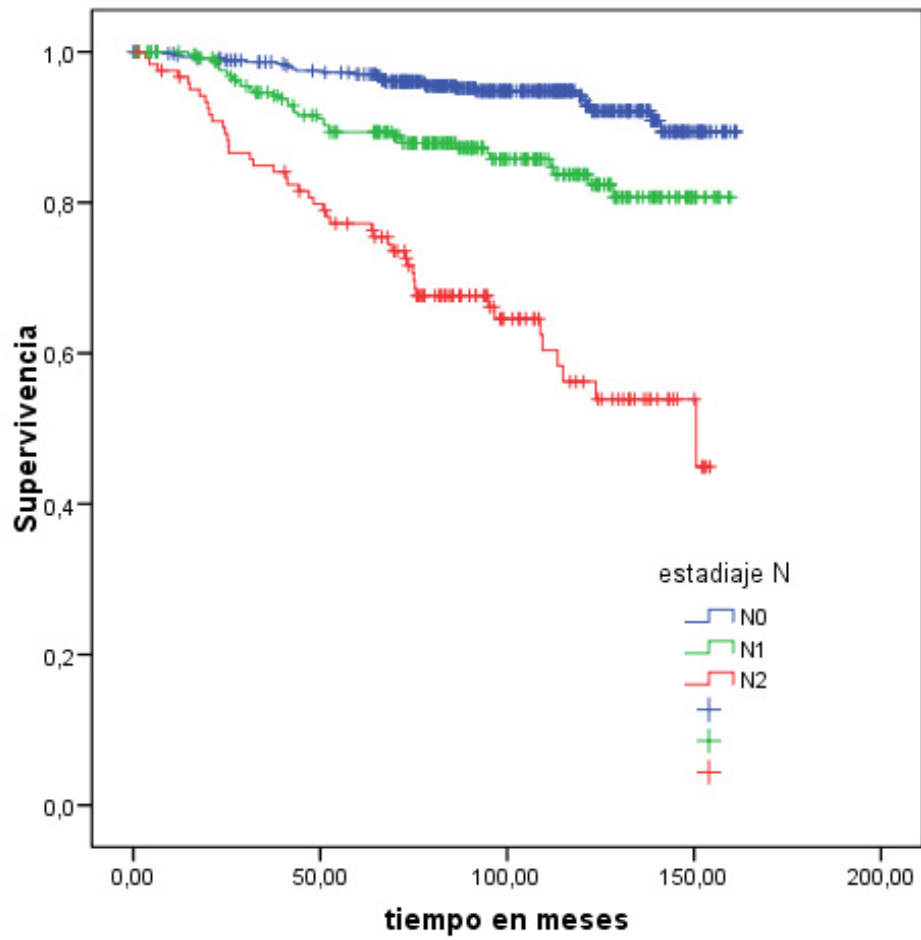


Figura 30. Gráfica de supervivencia específica por CM según afectación Ganglionar

Variables Clásicas	p	Exp (B)	95% IC Exp (B)
Edad	0.09	-	-
40-60 años	-	-	-
< 40	0.05	1.87	(0.98-3.62)
</= 60	0.08	1.43	(0.95-2.13)
Tamaño Tumoral	<0.001		
T1	-	-	-
T2	<0.001	4.94	(2.95-8.30)
T3	<0.001	10.93	(5.72-20.86)
T4	<0.001	17.81	(9.22-34.37)
Afectación Ganglionar	<0.001		
N0	-	-	-
N1	<0.001	2.60	(1.57-4.29)
N2	<0.001	7.71	(4.78-12.44)

Tabla 44. Supervivencia Específica por CM: Análisis univariante de F. P. Clásicos: Edad, T y N

El grado de diferenciación tumoral se revela como otro factor pronóstico. Con respecto a tumores muy diferenciados (grado I), los que muestran grado II tienen 3 veces más riesgo de muerte por cáncer de mama ($p=0.01$), los de grado III hasta 10 veces ($p<0.001$) (Figura 31 y Tabla 45).

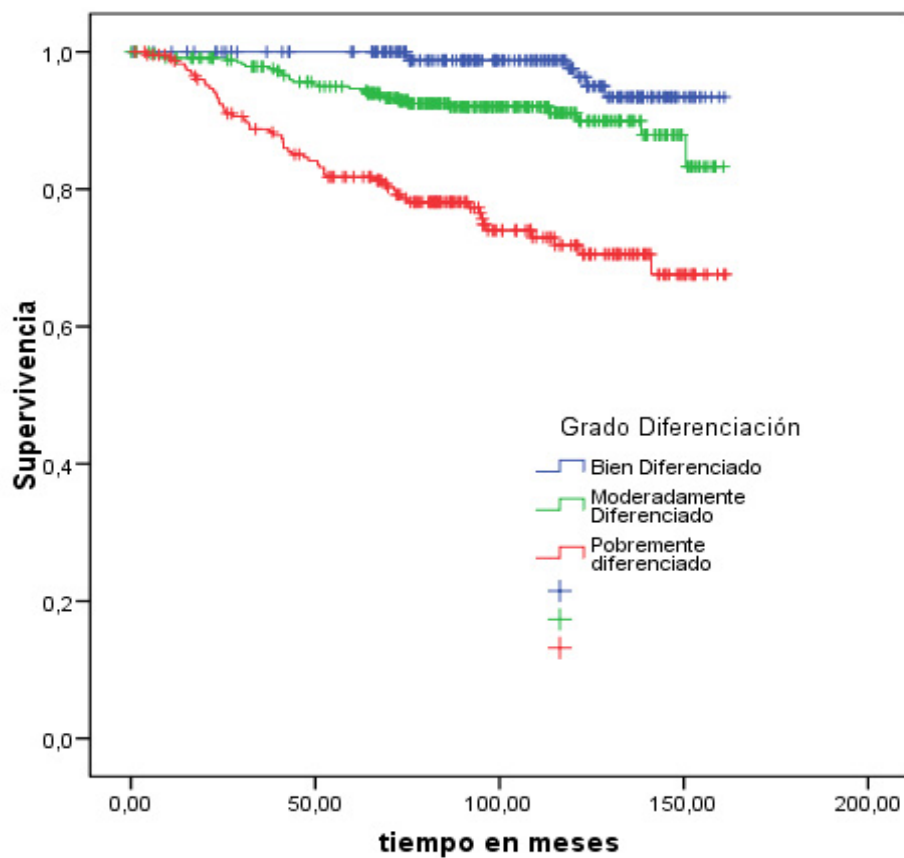


Figura 31. Gráfica de supervivencia específica por CM según grado de Diferenciación

La observación de la expresión de altos niveles de Ki-67 (> 15 %) en el tumor eleva 5 veces el riesgo de muerte por cáncer de mama respecto a presentar bajos niveles ($p < 0.001$) (Figura 32 y Tabla 45).

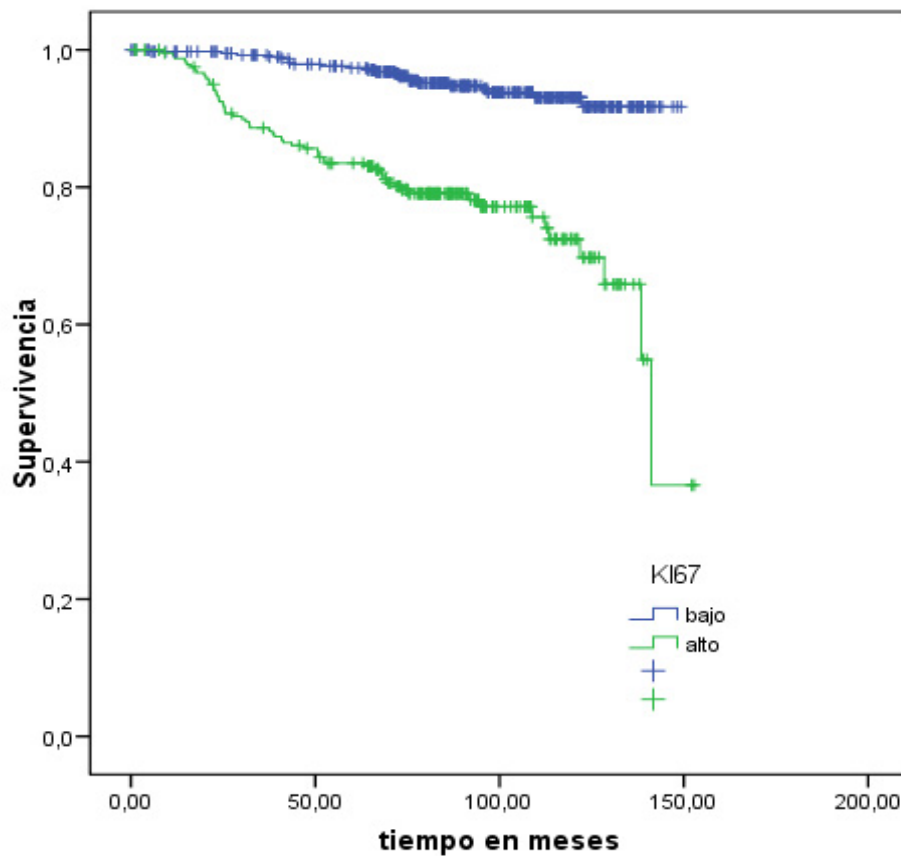


Figura 32. Gráfica de supervivencia específica por Cáncer de Mama según Ki-67

La presentación de mutación de p53 en el tumor también eleva el riesgo de muerte por cáncer de mama en casi 3 veces respecto a no evidenciar mutación ($p < 0.001$) (Figura 33 y Tabla 45).

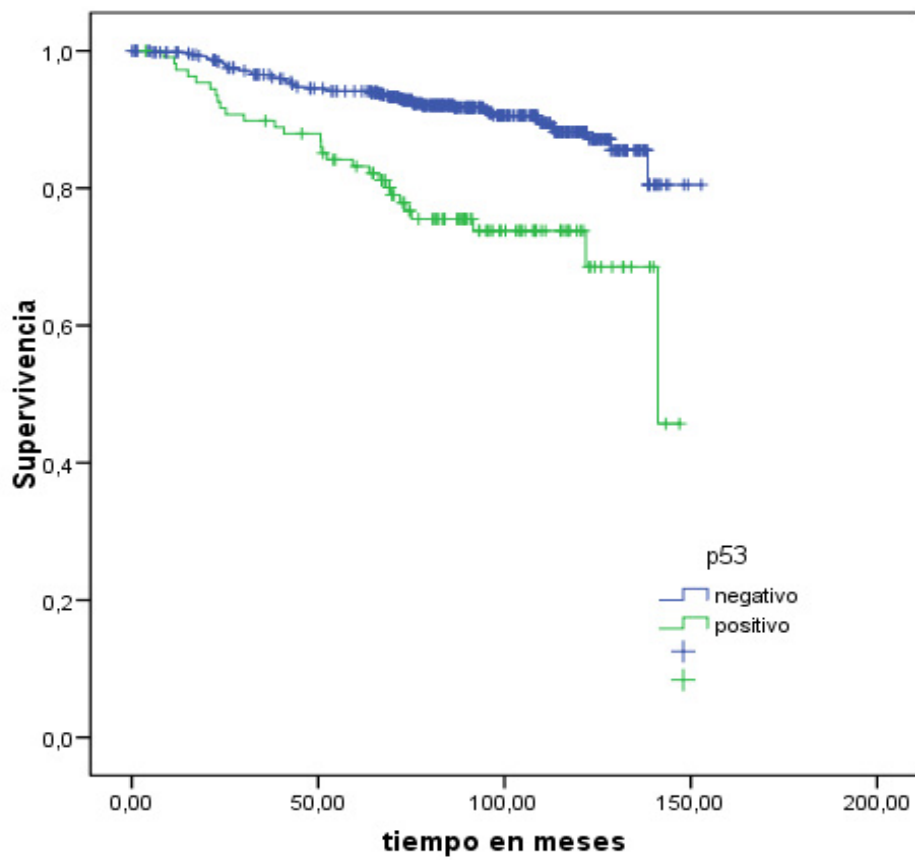


Figura 33. Gráfica de supervivencia específica por Cáncer de Mama según p53

Variables Clásicas	p	Exp (B)	95% IC Exp (B)
Grado de Diferenciación	<0.001		
I	-	-	-
II	0.01	3.18	(1.32-7.68)
III	<0.001	10.09	(4.34-23.42)
Expresión de Ki-67	<0.001		
Bajo	-	-	-
Alto	<0.001	5.03	(3.07-8.24)
Expresión de mutación p53	<0.001		
Negativa	-	-	-
Positiva	<0.001	2.95	(1.86-4.69)

Tabla 45. Supervivencia Específica por cáncer de mama: Análisis univariante de F. Pronósticos Clásicos: Grado de Diferenciación, Expresión de Ki-67 y p53

Lo mismo sucede con la expresión en el tumor de la proteína Her2-neu que eleva el riesgo de muerte por cáncer de mama 2.11 veces más respecto a no expresarla ($p < 0.001$) (Figura 34 y Tabla 46).

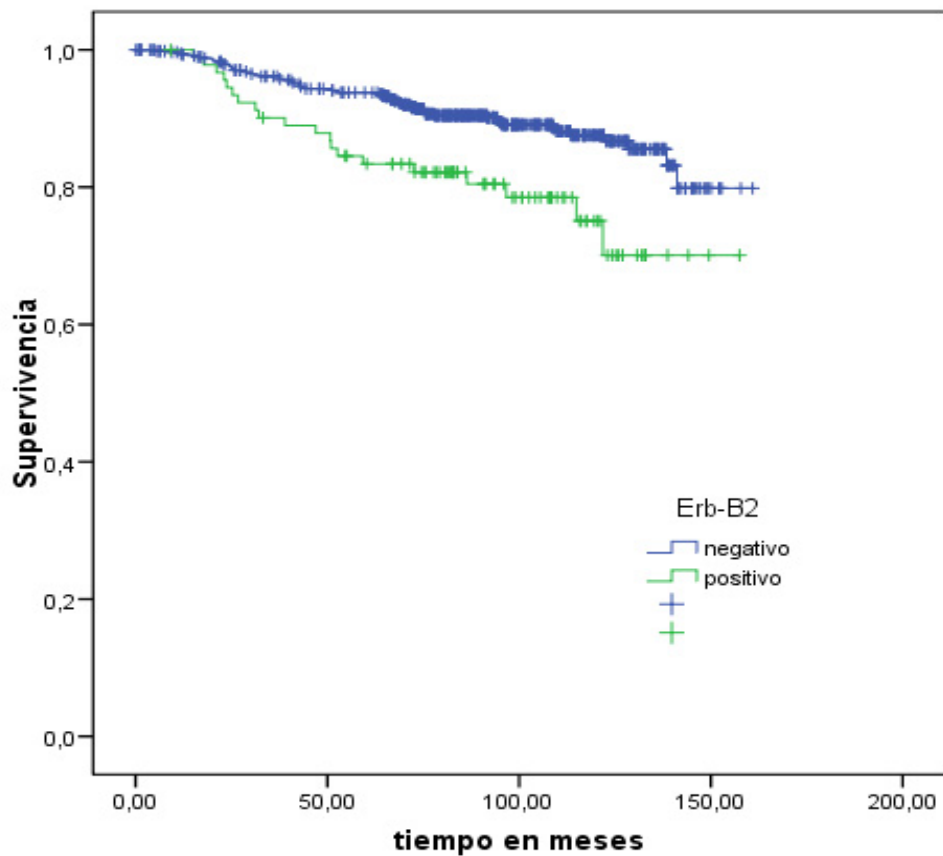


Figura 34. Gráfica de supervivencia específica por CM según expresión Her2- neu/c-ErbB2

En relación a la expresión de los receptores de Estrógeno y Progesterona ocurre lo contrario. La expresión en el tumor de cada uno de ellos disminuye el riesgo de muerte por cáncer de mama casi a la mitad ($p < 0.001$) (Figuras 35-36 y Tabla 46).

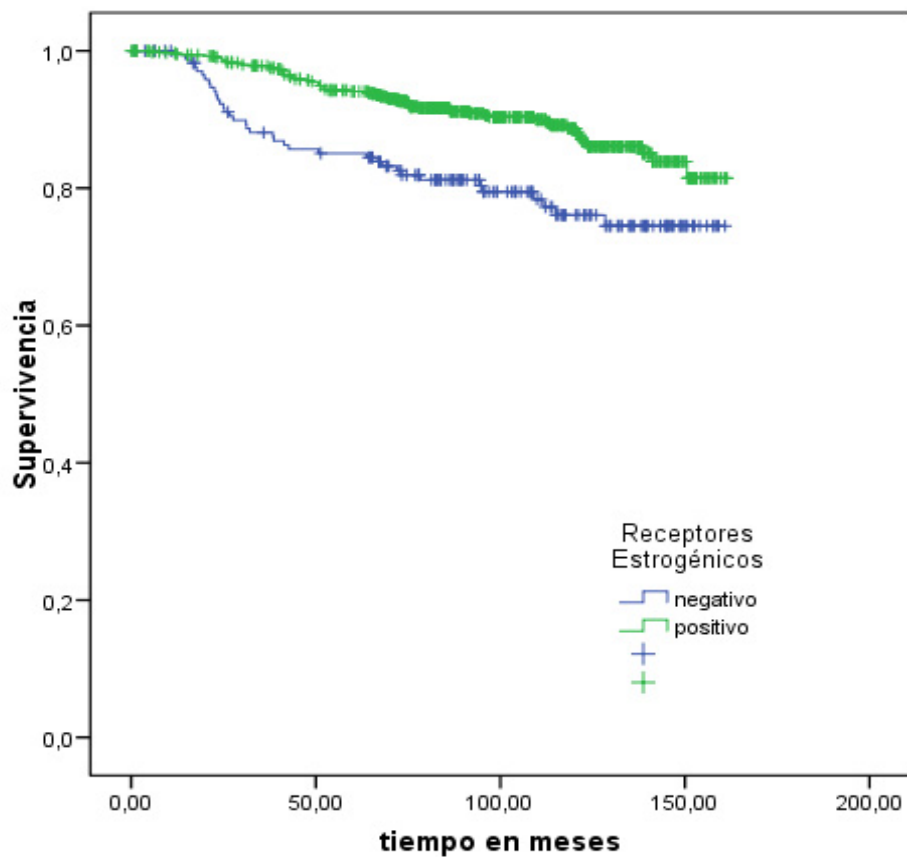


Figura 35. Gráfica de supervivencia específica por CM según R. de Estrógeno

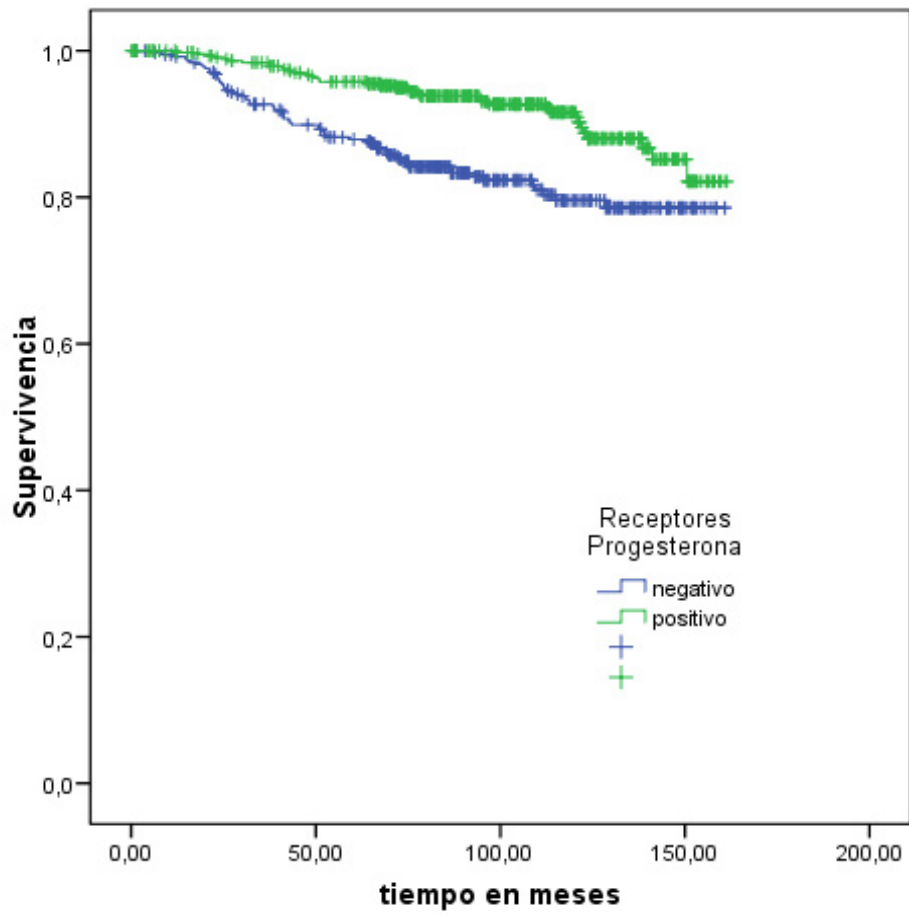


Figura 36. Gráfica de supervivencia específica por CM según R. de Progesterona

VARIABLES CLÁSICAS	p	Exp (B)	95% IC Exp (B)
Expresión de RE	<0.001		
Negativa	-	-	-
Positiva	<0.001	0.47	(0.32-0.71)
Expresión de RP	<0.001		
Negativa	-	-	-
Positiva	<0.001	0.45	(0.30-0.68)
Expresión de Her2-neu	<0.001		
Negativa	-	-	-
Positiva	<0.001	2.11	(1.27-3.49)

Tabla 46. Supervivencia Específica por cáncer de mama: Análisis univariante de F. Pronósticos Clásicos: Expresión de RE, RP y Her2-Neu

5.3.2. ANÁLISIS MULTIVARIANTE GLOBAL DE LOS FACTORES PRONÓSTICOS CLÁSICOS

En el análisis multivariante de los factores pronósticos clásicos de las 888 mujeres de nuestra muestra observamos que (Tabla 47):

Variables Clásicas	p	Exp (B)	95% IC Exp (B)
Edad	0.79		
40-60 años	-	-	-
< 40	0.55	1.27	(0.58-2.79)
>/= 60	0.60	1.16	(0.66-2.05)
Tamaño Tumoral	0.01		
T1	-	-	-
T2	0.03	2.23	(1.09-4.58)
T3	0.01	3.60	(1.34-9.65)
T4	<0.01	7.56	(2.89-19.78)
Afectación Ganglionar	<0.01		
N0	-	-	-
N1	0.05	2.01	(0.99-4.10)
N2	<0.01	4.11	(1.98-8.53)
Grado de Diferenciación	0.02		
I	-	-	-
II	0.09	3.62	(0.82-17.97)
III	0.01	6.36	(1.43-28.27)

Tabla 47. Supervivencia Específica por CM: Análisis multivariante de F. Pronósticos Clásicos: Edad, Tamaño Tumoral, Afectación Ganglionar y Grado de Diferenciación

La edad pierde significación estadística en las pacientes menores de 40 años.

El tamaño tumoral continúa revelándose como factor pronóstico de muerte por cáncer de mama, elevando respectivamente el riesgo de muerte a 2.23, 3.60 y 7.56 veces para los tumores T2 ($p=0.03$), T3 ($p=0.01$) y T4 ($p<0.01$) (Tabla 47).

También la afectación ganglionar mantiene la significación estadística. Presentar entre 1-3 ganglios afectados por células tumorales eleva 2 veces el riesgo de muerte respecto a los tumores N0 ($p=0.05$). Cuando se observa afectación de 4-10 ganglios el riesgo aumenta hasta 4 veces ($p<0.01$) (Tabla 47).

Únicamente en los tumores indiferenciados (grado III) se ve aumento de riesgo de muerte por cáncer de mama, hasta 6.36 veces, respecto a tumores muy diferenciados (grado I) ($p=0.01$). El grado II de diferenciación pierde su significación en el análisis multivariante (Tabla 47).

La expresión de altos niveles ($>15\%$) de Ki-67 continúa siendo factor pronóstico, elevando 2.73 veces el riesgo de muerte por cáncer de mama respecto a niveles bajos de la misma proteína ($p<0.01$). En el análisis multivariante dejan de ser factores pronósticos: la mutación de p53, la expresión de Her2-neu y la de los receptores de estrógeno y progesterona (Tabla 48).

Variables Clásicas	p	Exp (B)	95% IC Exp (B)
Expresión de Ki-67	<0.01		
Bajo	-	-	-
Alto	<0.01	2.73	(1.38-5.38)
Expresión de mutación p53	0.97		
Negativa	-	-	-
Positiva	0.97	1.01	(0.55-1.87)
Expresión de RE	0.77		
Negativa	-	-	-
Positiva	0.77	1.11	(0.56-2.20)
Expresión de RP	0.07		
Negativa	-	-	-
Positiva	0.07	0.58	(0.32-1.06)
Expresión de Her2-Neu	0.29		
Negativa	-	-	-
Positiva	0.29	1.38	(0.76-2.51)

Tabla 48. Supervivencia Específica por CM: Análisis multivariante de F. P. Clásicos: Expresión de Ki-67, p53, RE, RP y Her2-Neu

5.4. IMPACTO DE LOS SUBTIPOS TUMORALES EN LA SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CÁNCER DE MAMA

También los diferentes subtipos tumorales pueden desvelarse como factores pronóstico. Incluimos en el análisis las 680 pacientes clasificadas en subtipos tumorales por técnicas inmunohistoquímicas (Tabla 49).

Subtipos Tumorales	p	Exp (B)	95% IC Exp (B)
Luminal A (LA)	<0.001	-	-
Luminal B (LB)	<0.001	3.92	(2.22-6.90)
Erb-B2	<0.001	5.66	(2.36-13.56)
Triple Negativo (TN)	<0.001	3.89	(2.04-7.39)

Tabla 49. Supervivencia específica por CM y subtipos tumorales.

De forma grosera, sin ajustarse por ninguna de las variables clásicas que han demostrado elevar el riesgo de muerte por cáncer de mama, podemos observar un aumento de riesgo para los subtipos tumorales Erb-B2, Luminal B y Triple Negativo respecto al subtipo Luminal A (casi 6 veces para el primero y casi 4 en el caso de los dos últimos) ($p < 0.001$).

5.5. IMPACTO DE LA COMBINACIÓN DE LA AFECTACIÓN GANGLIONAR Y SUBTIPOS TUMORALES EN LA SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CÁNCER DE MAMA

En pacientes sin afectación ganglionar se mantiene un aumento de riesgo de muerte por cáncer de mama para los subtipos Luminal B ($p < 0.001$) y Triple Negativo ($p = 0.02$). No así en el subtipo Erb-B2 ya que no falleció ninguna de las enfermas pertenecientes a este subtipo sin afectación ganglionar. En mujeres con afectación ganglionar se observa 3.51, 3.48 y 2.63 veces más riesgo de muerte por cáncer de mama para los tumores Erb-B2, Triple Negativo y Luminal B respectivamente, en relación a los Luminales A ($p < 0.01$) (Tabla 50).

Variables	p	Exp (B)	95% IC Exp (B)
NO	0.03		
LA	-	-	-
LB	<0.001	6.94	(1.88-25.66)
Erb-B2	0.99	0.0	0.0
TN	0.02	5.48	(1.28-23.44)
N1-2	<0.01		
LA	-	-	-
LB	<0.01	2.63	(1.37-5.04)
Erb-B2	<0.01	3.51	(1.41-8.72)
TN	<0.01	3.48	(1.68-7.24)

Tabla 50. Supervivencia específica por CM y subtipos en pacientes con y sin afectación ganglionar

5.6. IMPACTO DE LA COMBINACIÓN DE FACTORES PRONÓSTICOS CLÁSICOS Y SUBTIPOS TUMORALES EN LA SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CÁNCER DE MAMA

Utilizando las variables clásicas que han resultado significativas como factor pronóstico en el análisis multivariante, se construye un modelo para valorar si los diferentes subtipos tumorales podrían considerarse como factores pronósticos. Es decir, para descubrir si tras ajustar por tamaño tumoral, afectación ganglionar, grado de diferenciación y nivel de expresión de Ki-67, tener un subtipo tumoral u otro condiciona el riesgo de muerte por cáncer de mama (Tabla 51).

Observamos que en el análisis multivariante el tamaño tumoral continúa siendo un importante factor pronóstico elevando el riesgo a 2.23, 3.52 y 7.08 veces respectivamente para los tumores T2 ($p=0.03$), T3 ($p=0.01$) y T4 ($p<0.001$). respecto a los T1.

Lo mismo sucede con la afectación ganglionar, se aumenta el riesgo 2.04 y 4.27 veces para los tumores N1 ($p=0.04$) y N2 ($p<0.001$). respecto a los que presentan ausencia de invasión adenopática.

Únicamente el grado III mantiene significación estadística, incrementando el riesgo 6 veces respecto a los tumores muy diferenciados (grado I) ($p=0.01$).

La expresión de Ki-67 pierde significación estadística al combinarse con los subtipos tumorales.

Variables Clásicas	p	Exp (B)	95% IC Exp (B)
Tamaño Tumoral	<0.001		
T1	-	-	-
T2	0.03	2.23	(1.09-4.56)
T3	0.01	3.52	(1.31-9.47)
T4	<0.001	7.08	(2.75-18.23)
Afectación Ganglionar	<0.001		
N0	-	-	-
N1	0.04	2.04	(1.01-4.14)
N2	<0.001	4.27	(2.05-8.89)
Grado de Diferenciación	0.01		
I	-	-	-
II	0.13	3.12	(0.71-13.58)
III	0.01	6.09	(1.38-26.79)
Ki-67	0.72		
Bajo	-	-	-
Alto	0.72	1.21	(0.42-3.50)
Subtipos Tumorales	0.21		
Luminal A (LA)	-	-	-
Luminal B (LB)	0.12	2.52	(0.77-8.22)
Erb-B2	0.40	1.92	(0.42-8.61)
Triple Negativo (TN)	0.04	3.54	(1.02-12.29)

Tabla 51. Modelo Pronóstico de Supervivencia Específica por Cáncer de mama

En cuanto a los subtipos tumorales sólo se mantiene como factor pronóstico significativo de muerte por cáncer de mama el subgrupo tumoral Triple Negativo, elevando el riesgo 3.54 veces respecto al Luminal A ($p=0.04$) (Tabla 51 y Figuras 37, 38 y 39).

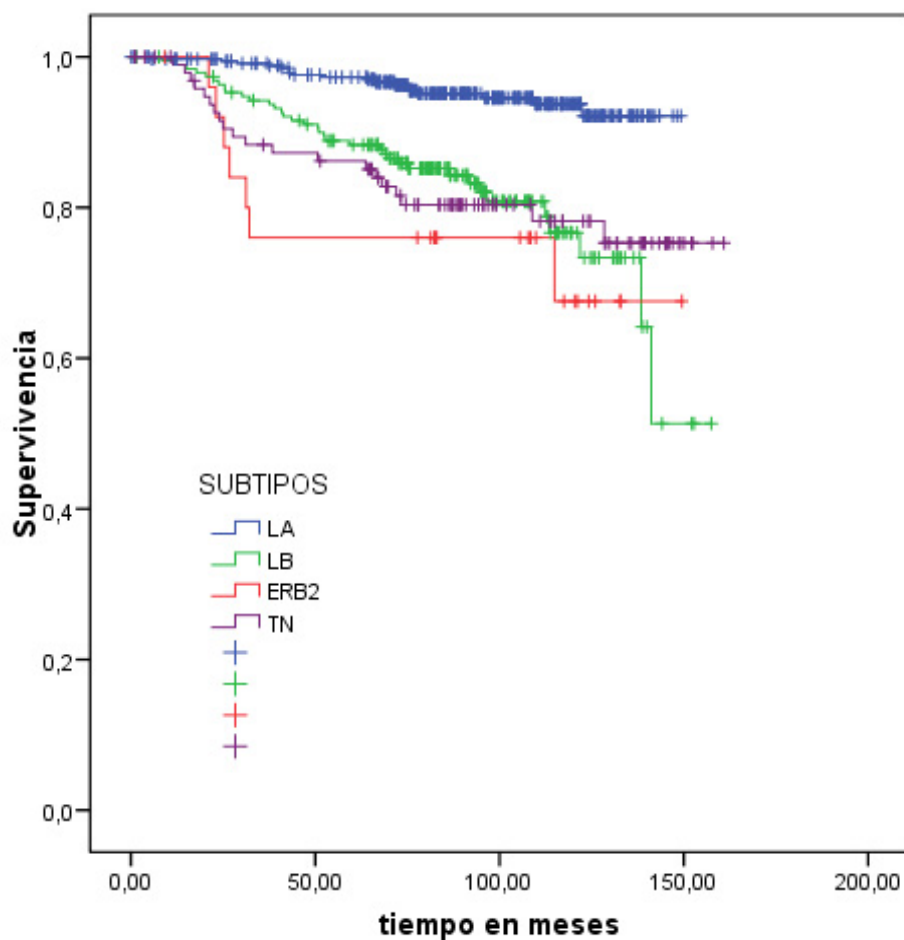


Figura 37. Gráfica de supervivencia específica por CM según Subtipos Tumorales

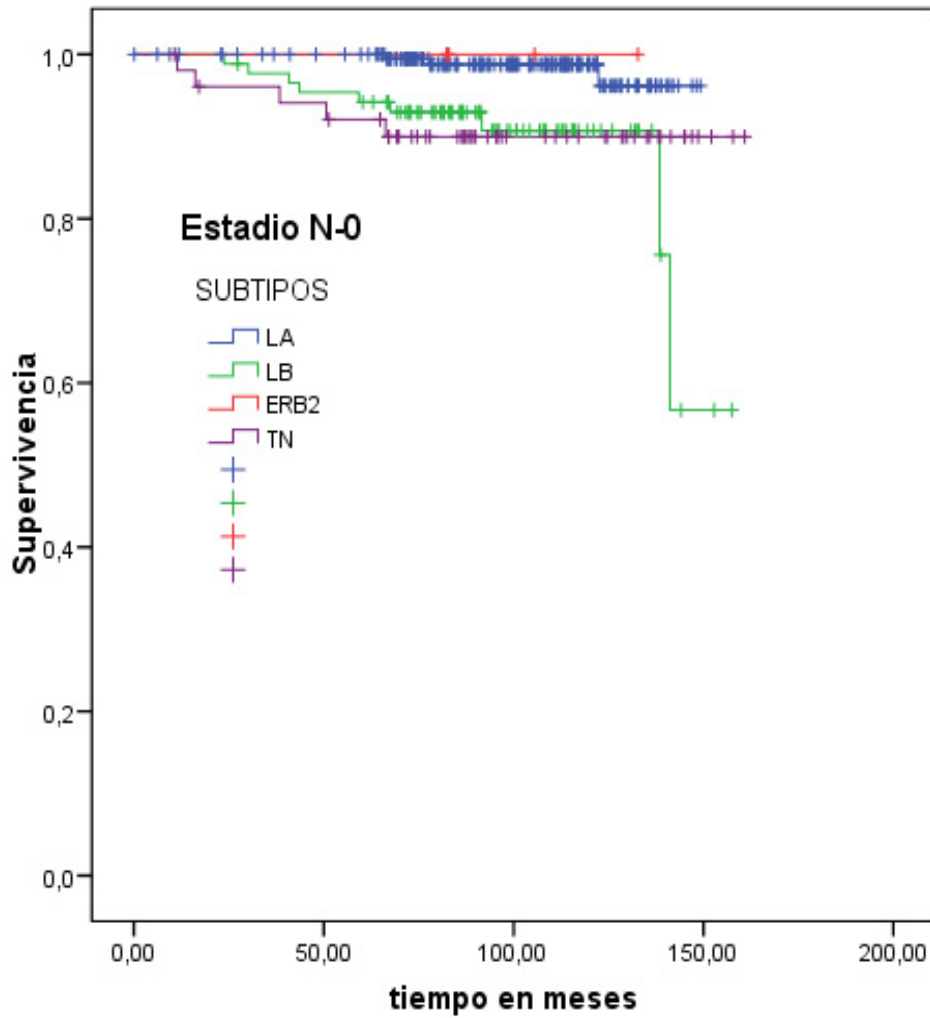


Figura 38. Gráfica de supervivencia específica por CM en pacientes sin afectación Ganglionar según Subtipos Tumoriales

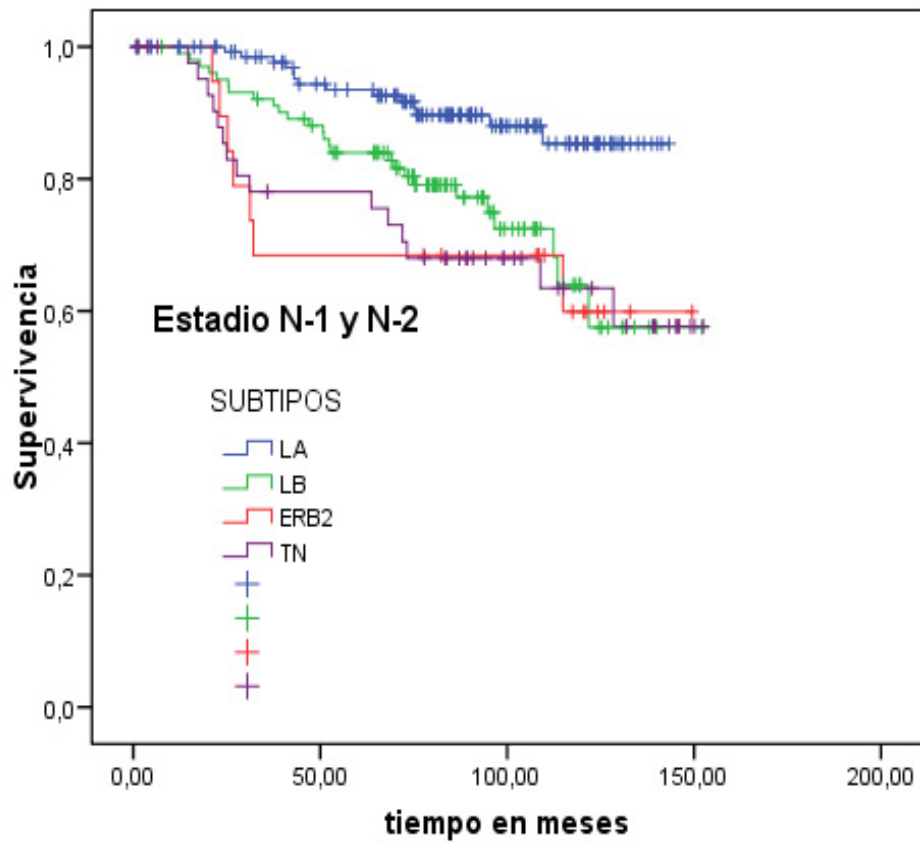


Figura 39. Gráfica de supervivencia específica por CM en pacientes con afectación Ganglionar según Subtipos Tumorales

6. DISCUSIÓN

El cáncer de mama supone en España la primera causa de muerte por cáncer en el sexo femenino ⁽⁶⁾. Esta neoplasia presenta una importante variabilidad biológica y diverso perfil evolutivo en las pacientes ⁽²⁾. La posibilidad de establecer categorías de riesgo de muerte y recaída, según el perfil inmunohistoquímico tumoral, añadido a los factores pronósticos clásicos, nos ayudaría a individualizar el abordaje terapéutico complementario a la cirugía ⁽⁵⁾.

A lo largo de esta última década se han conocido varios subtipos tumorales de cáncer de mama que, según su perfil genético, determinan un diferente comportamiento biológico ^(195-197, 199, 202). A pesar de que estos perfiles de expresión génica son considerados como patrón oro para definir los diferentes subtipos intrínsecos tumorales, la existencia actual de importantes limitaciones como: la validación en estudios prospectivos aún en curso (TAILOR X Y MINDACT), su aplicación masiva en la práctica clínica diaria debido a eventuales dificultades técnicas y su alto coste económico, invita a investigar otro método de tipificación.

En un intento de desarrollar una clasificación clínicamente significativa, técnicamente simple, reproducible y ampliamente disponible, se han estudiado clasificaciones moleculares basadas en la inmunohistoquímica y derivadas de datos de los perfiles genéticos, correlacionadas con el curso clínico y capaces de proporcionar información pronóstica y predictiva adicional ⁽³²⁷⁻³³⁰⁾. Esta clasificación inmunohistoquímica se ha ido perfilando progresivamente por lo que diferentes estudios, realizados a lo largo de los años, han categorizado de forma variable los subtipos tumorales Luminal A, Luminal B, Erb-B2 y Triple Negativo.

Tras el descubrimiento de Ki-67 como parámetro de diferenciación de ambos grupos Luminales ⁽²⁰²⁾ y la caracterización inmunohistoquímica de los tumores Basal-Like dentro de los Triple Negativo ⁽³²⁷⁾, se ha definido mejor cada subtipo intrínseco. Los dividimos entonces en: Luminal A (RE + y/o RP+, Her2- neu - y Ki-67 bajo), Luminal B (RE + y/o RP+, Her2- neu + y/o Ki-67 alto), Erb-B2 (RE -, RP- y Her2- neu +) y Triple Negativo (RE -, RP- y Her2- neu -). Los tumores Triple Negativos pueden ser clasificados en subtipo Basal-Like (RE - y RP-, Her2-neu -, CK 5/6 +y/o EGFR +) y subtipo no Basal-Like o Normal-Like (RE - y RP-, Her2- neu -, CK 5/6 – y/o EGFR -).

En nuestro trabajo de investigación hemos estudiado, en una muestra de mujeres con cáncer de mama infiltrante y no metastásico del Registro de Tumores del Complejo Hospitalario Universitario de Ourense (CHUO) recogida durante los años 1997-2004, la relación entre los factores pronósticos clásicos en estas pacientes y los subtipos tumorales identificados por inmunohistoquímica.

No todos los datos fueron recogidos inicialmente del Registro de Tumores de Mama. Fue necesario realizar a posteriori, en las muestras parafinadas, la determinación de Her2-neu y de las CK 5/6 y EGFR en los tumores Triple Negativo para clasificar a las pacientes.

En 888 enfermas hemos analizado los factores pronósticos clásicos y su relación con la supervivencia. En 208 pacientes, debido a la ausencia de alguna variable inmunohistoquímica y a la imposibilidad de realizar su determinación (RE, RP, Her2-neu o Ki-67), no fue posible su clasificación en subtipos tumorales. Por tanto, se incluyeron para el análisis de factores pronósticos por subtipos tumorales 680 mujeres.

6.1. FACTORES PRONÓSTICOS CLÁSICOS

La media de edad fue de 62.10 años, la mediana de 62 y el intervalo [27-96]. El 57.21% de las pacientes con cáncer de mama tenían más de 60 años. Este es un hecho previsible en una provincia envejecida como la nuestra, que presenta una inversión de su pirámide poblacional. Sólo el 6.64% de las mujeres con cáncer de mama eran <40 años, únicamente este segmento etario resultó factor pronóstico de supervivencia en el análisis univariante, perdiéndose su valor en el multivariante. Clásicamente se ha considerado la edad como un factor pronóstico independiente ^(70-71, 74-76), sin embargo en estudios publicados más recientemente se ha documentado la pérdida del valor pronóstico de ésta al ajustar por otros factores pronósticos como estadio y grado tumoral ⁽⁷⁷⁻⁸⁰⁾, de forma similar a nuestro trabajo.

Más de la mitad de las enfermas fueron diagnosticadas en estadios precoces. Menos del 15% de los casos se presentaban como localmente avanzados, lo que sugiere una buena adhesión al Programa de Screening de Cáncer de mama de la Xunta de Galicia y un acceso rápido a los procedimientos diagnósticos y terapéuticos ⁽¹⁾.

Histológicamente en su mayoría eran carcinomas ductales infiltrantes (83.70%). Otras histologías se presentan en mucha menor proporción, alcanzando los carcinomas lobulillares infiltrantes el 7.50% comparable a lo reportado previamente ⁽¹³⁷⁻¹³⁸⁾.

Se observa semejante afectación de ambas mamas y alrededor de 1.6% de neoplasias bilaterales.

La mitad de nuestras pacientes presentaban tumores menores de 1 cm sin afectación ganglionar axilar, lo que hace reflexionar sobre la trascendencia de encontrar nuevos factores pronósticos que ayuden a decidir el tratamiento ulterior de cada una de este grupo de enfermas ^(59, 64, 162, 168). Una cuarta parte de las restantes presentaba infiltración de 1 a 3 ganglios, siendo bajo el porcentaje de mujeres con más de 10 ganglios afectados.

Como en otros estudios publicados tanto el tamaño tumoral como la afectación ganglionar fueron factores pronósticos de supervivencia ^(59, 76, 92, 95, 99, 101-102, 107-108), tanto en el análisis univariante como en el multivariante, manteniendo también su valor pronóstico independiente cuando se combinaba con los subtipos tumorales.

El grado histológico más frecuente fue el II. Los tumores poco diferenciados supusieron un 30% y fueron los únicos que demostraron constituir un factor pronóstico de supervivencia en todos los análisis estadísticos realizados, de manera superponible al criterio del Consenso de Saint Gallen ^(2, 69).

La expresión de receptores de estrógeno se observa en las 3/4 partes de los cánceres de mama y la de los de progesterona en la mitad. Esta proporción es discretamente mayor a la reportada previamente en la literatura ⁽²⁴¹⁾. Ambos revelaron valor pronóstico exclusivamente en el análisis univariante reduciendo el riesgo a la

mitad, aproximadamente. La pérdida de su valor pronóstico con el tiempo y el postulado de que probablemente refleje únicamente una evolución del tumor más indolente, con mayor tiempo a la recurrencia de forma natural, ya fue referida en otras publicaciones^(101, 252).

La expresión de Her2-neu se objetivó en el 10% de la muestra global, no siendo posible conocerla en torno al 20% de las pacientes totales. Mantuvo su valor pronóstico únicamente en el análisis univariante, al contrario que en la serie más grande reportada antes del inicio de la terapia con Trastuzumab, con casi 40 000 pacientes⁽²⁸⁵⁾. La finalización de la inclusión de pacientes diagnosticadas hasta el año 2004 tiene como objetivo la evaluación de factores pronósticos antes de la introducción de Trastuzumab como tratamiento adyuvante en enfermas con expresión de Her2-neu o c-erbB2⁽²⁹⁸⁻²⁹⁹⁾.

Cerca de la mitad de las pacientes presentaron niveles bajos de Ki-67 (< 15%). Este dato estaba recogido como valor numérico en el informe anatómo-patológico. La división en nivel alto o bajo se realizó según el modelo pronóstico de Guarneri. Este modelo valoraba la afectación ganglionar y los valores de Ki-67 como factores pronósticos de recaída y muerte en enfermas con cáncer de mama localmente avanzado, previamente tratadas con QT neoadyuvante⁽¹⁸¹⁾. En el metanálisis de De Azambuja sobre el valor pronóstico de Ki-67 en más de 12 000 pacientes, observamos que los valores oscilan entre 8 y 28 en las diferentes publicaciones. Parece haber cierto consenso científico en que los valores por debajo de 10 acreditan una baja

proliferación y los mayores de 20 parecen correlacionarse con un alto índice proliferativo⁽¹⁸⁰⁾. Los estudios de Cheang y Hugh establecen como un nivel alto >13.5% y >13% respectivamente^(194, 203). Por tanto el valor numérico establecido por Guarneri era reproducible en la mayoría de los estudios y había demostrado valor pronóstico, por lo que decidimos asignarlo a nuestra muestra.

La significación pronóstica de Ki-67 se confirmó en los análisis uni y multivariante igualmente que en los estudios del metanálisis de De Azambuja⁽¹⁸⁰⁾. Se perdió, sin embargo, al introducir los subtipos tumorales como variable en el análisis estadístico, posiblemente por formar parte de la definición intrínseca del subtipo LB. No obstante, confiere igualmente peor pronóstico dentro de este subtipo como previamente detalló Cheang⁽²⁰³⁾.

La mutación de p53 se distinguió en un pequeño porcentaje de las enfermas 12.25%, no pudiendo ser determinado en la cuarta parte de ellas. Solo se verifica como factor pronóstico de supervivencia en el análisis univariante al igual que en el estudio de largas supervivientes de Soerjomataram, perdiendo su potencia pronóstica al corregirse por otros factores como estadio y grado tumoral⁽¹⁰¹⁾.

En relación a los tratamientos, podemos comprobar la proporción similar de mastectomías radicales y conservadoras y la linfadenectomía como abordaje más frecuente de la axila. Estos resultados probablemente estén en relación con el intervalo estudiado, 1997-2004, y no se superponen con los del período 2004-2011,

donde las mastectomías radicales son excepcionales y la linfadenectomía se realiza tras biopsia selectiva de ganglio centinela (BSGC)^(123-124, 129).

Más del 60% de las mujeres recibieron Radioterapia tras cirugía conservadora o tras mastectomía, por afectación axilar de más de 3 ganglios.

Igualmente casi el 60% recibieron quimioterapia. Los regímenes de quimioterapia más utilizados fueron antraciclinas y CMF, con discreta preponderancia de las primeras. La utilización combinada de antraciclina y taxano solamente se evidencia en el 8% de las enfermas, también en probable relación con el intervalo de años estudiado.

La intensidad de dosis fue >85% en el 80% de las mujeres que la recibieron, lo que sugiere que, a pesar de la edad media de las enfermas y las posibles comorbilidades que presentaran, la tolerancia fue buena.

En el 80% de los casos las mujeres recibieron tratamiento hormonal, en su mayoría Tamoxifeno (casi el 60% de ellas)⁽²⁴⁵⁾. Los inhibidores de la aromatasas en monoterapia solo se utilizaron en el 5% de los casos⁽²³⁶⁾. El tratamiento combinado de análogo de LHRH y Tamoxifeno únicamente en el 1%, justificable por la edad y el estado menopáusico de la mayoría de las enfermas. En el resto se utilizó un tratamiento combinado de inhibidor de la aromatasas y Tamoxifeno, seguramente para contrarrestar los efectos óseos y cardiovasculares del primero⁽²³⁶⁾.

Con respecto al estado de las pacientes en el momento de la recogida de datos (Octubre-2010), el 70% de ellas estaban vivas. Había una proporción similar de pacientes fallecidas por cáncer de mama y por otras causas no relacionadas con su tumor (13%). De nuevo el envejecimiento de la muestra justifica nuestros hallazgos y nos obliga a ser prudentes a la hora de decidir y ajustar individualmente la terapia complementaria a la cirugía.

Menos del 20% de las pacientes habían recaído de forma similar a la media española ^(12, 15). Las recaídas fueron predominantemente viscerales, en hígado y pulmón (sistémicas) (7%), y en similar proporción en hueso, loco-regional y múltiples (a diferentes niveles de forma sincrónica). La recaída aislada en SNC fue anecdótica.

6.2. SUBTIPOS TUMORALES COMO FACTOR PRONÓSTICO Y HALLAZGOS CLÍNICOS PATOLÓGICOS ASOCIADOS

Inicialmente analizaremos en nuestra muestra las características clínico-patológicas que los diferentes estudios han asimilado a cada subtipo tumoral.

Observamos que los subtipos Luminal B, Erb-B2 y Triple Negativo son más frecuentes en las mujeres menores de 40 años al igual que en otras publicaciones ^(194, 266, 320, 330, 335, 341). El Luminal A se presenta en mayor porcentaje en pacientes mayores de 60 años, siendo además el grupo más numeroso globalmente, similar a lo reportado en otros trabajos científicos ^(194, 203, 266, 338-340, 353, 357). No obstante, estas publicaciones no son estrictamente reproducibles pues utilizan diferente definición del subtipo Luminal B.

Con respecto al tamaño tumoral, casi el 60% de los tumores Luminal A de nuestra muestra eran menores de 2 cm. Solo la cuarta parte de los Erb-B2, y una proporción del 40 y 46% respectivamente de los LB y TN. Este hallazgo presenta concordancia con otras investigaciones ^(338, 342, 357). Sin embargo otros autores como Bhargava no encuentran diferencias en el tamaño tumoral entre subtipos ⁽³⁵³⁾ y Dent refiere asociación de mayor tamaño tumoral con el subtipo Triple Negativo, que no se evidencia en nuestro trabajo ⁽³⁴²⁾ ni en el de Liedtke ⁽³⁶⁸⁾.

La ausencia de afectación ganglionar es más frecuente en el subtipo Luminal A, casi el 60%, similar a los estudios de Voduc y Dawson ^(337, 341). La invasión ganglionar aparece en casi 3/4 partes de los tumores Erb-B2 como se define característicamente en los estudios de Blows y Kim ^(331, 338). En los otros subtipos lo observamos de forma semejante en 1/3 de las enfermas. Hugh, en su estudio en pacientes con invasión axilar y con una clasificación similar a la nuestra, recogía un porcentaje similar para todos los subtipos, incluido Erb-B2, al igual que Liedtke y Bosch ^(194, 357, 368). Dent refiere más invasión de la axila en neoplasias Triple Negativo ⁽³⁴²⁾.

La presentación como tumores localmente avanzados suele ser más frecuente en Erb-B2 ^(266, 331, 338). En nuestro estudio la encontramos además en los subtipos Luminal B y Triple Negativo. Pudiera explicarse refiriendo que en estos subgrupos hay más representación de mujeres jóvenes en las que aún no se ha iniciado el programa de screening, o bien, porque hayan sido detectados como “cánceres de intervalo”, hallados en el intervalo de tiempo sucedido entre la realización de dos pruebas diagnósticas de screening, más frecuentes igualmente en el subtipo Triple Negativo ^(329, 344, 367).

La histología más frecuente en todos los subtipos fue el carcinoma ductal infiltrante. En el subgrupo Luminal A se observaron histologías de mejor pronóstico como los tumores mucinosos y tubulares y un mayor porcentaje de carcinomas lobulillares, como refirió Jung ⁽¹⁵⁰⁾. Curiosamente recogemos en nuestro estudio, la asociación de tumores medulares con el subtipo Erb-B2 y no con el Triple Negativo, como otros autores han encontrado en sus investigaciones ^(151, 251, 357, 369-370).

Con respecto al grado de diferenciación histológica, vemos que la mayoría de los tumores indiferenciados se encuentran en los subtipos Erb-B2 y Triple Negativo respectivamente, de acuerdo con la literatura ^(266, 330-331). Otros autores encuentran más neoplasias indiferenciadas en tumores Triple Negativo seguidos de Erb-B2 ^(338, 342, 353, 357, 368). La mayoría de nuestros cánceres Luminales A son tumores bien diferenciados, correspondiéndose con publicaciones previas ^(196-197, 199, 353, 378).

Las mutaciones de p53 que observamos fueron más frecuentes en los subgrupos Erb-B2, Triple Negativo y Luminal B en orden descendente, superando el 50% en el primer subtipo, semejante a lo ya descrito ^(266, 330-331). En el grupo de tumores Luminal A no alcanzaron el 3%, en Luminal B eran cercanas al 25%, similar a lo reportado ⁽²⁰²⁾.

En los subtipos Erb-B2, Triple Negativo y Luminal B observamos altos niveles de expresión de Ki-67: más del 80% en Erb-B2 y Luminal B (implícito en la definición de este subtipo) y el 61% en los Triple Negativo, igualmente concordante con lo conocido actualmente ^(266, 330-331, 334).

Revisando el abordaje terapéutico objetivamos que en el subtipo Erb-B2 se realizaron un porcentaje mayor de mastectomías radicales que en otros, siendo en el subtipo Luminal A donde se observa un discreto aumento, respecto a los otros, de maniobras quirúrgicas conservadoras.

También en la administración de Radioterapia complementaria hay un discreto incremento porcentual en las neoplasias Erb-B2 sobre los otros subtipos, en probable

relación con el estadio de la enfermedad, una vez que presenta más proporción de mastectomías radicales.

De igual forma sucede con el tratamiento quimioterápico, lo reciben el 85% de los tumores Erb-B2, el 78% de los Triple Negativo, el 73% de los Luminales B y el 45% de los Luminales A. Esta observación pudiera explicarse por la existencia de estadios tumorales más avanzados en el subtipo Erb-B2, la edad más joven de afectación en los Luminales B y Triple Negativo, la ausencia de beneficio de tratamiento hormonal complementario en el subgrupo Triple Negativo y la existencia de más de la mitad de pacientes en estadio I en el subtipo Luminal A.

En nuestro estudio también se evidencian diferencias en mortalidad entre los subtipos. La mortalidad específica por cáncer de mama alcanzó el 27% en los tumores Erb-B2, 20% en los Triple Negativo, 19% en Luminales B y únicamente el 5% en Luminales A, en consonancia con la diferente agresividad biológica del subtipo tumoral y con la mayoría de las publicaciones ^(194, 203, 266, 330-331, 335-340, 342). Sin embargo la muerte por otras causas no relacionadas con el tumor presentó una correlación inversa, 25% en Luminales A y alrededor del 8% en el resto de los subtipos. La incidencia de tumores Luminales A en mujeres mayores justifica este hecho.

Las recaídas supusieron el 38.5% en neoplasias Erb-B2 (predominantemente viscerales), el 29% en las Triple Negativo (en vísceras y SNC), el 23.7% en Luminales B (viscerales y óseas) y el 10% en Luminales A (sobre todo visceral). Éstas se contraponen a lo publicado sobre los cánceres Luminales A, refiriéndose preferentemente recaídas óseas ^(339, 344) y sobre los Erb-B2, donde se observan recaídas en SNC más

específicamente ⁽³⁵⁴⁻³⁵⁶⁾, aunque también se presenten en el subgrupo Triple Negativo en menor proporción ^(336-337, 342). El resto de información obtenida de nuestras recaídas se corresponde con lo ya reportado.

En cuanto al valor pronóstico de los subtipos tumorales hemos advertido, haciendo un análisis univariante de los mismos, que los tumores Erb-B2 tienen 6 veces más riesgo de muerte que los Luminales A en nuestra muestra, y los Triple Negativo y Luminales B 4 veces más (comparamos todos los subtipos frente al de mejor pronóstico, Luminal A).

Sabemos que, hasta la fecha, la afectación ganglionar constituye el principal factor pronóstico. Por tanto hemos estratificado los subtipos tumorales, según la invasión ganglionar o no, para determinar si ajustados por la afectación ganglionar pronóstica todavía mantienen valor pronóstico. Sorprendentemente, de las 5 pacientes con tumores Erb-B2 sin afectación axilar (N0) ninguna ha recaído, por lo que valoramos únicamente el valor pronóstico de Luminal B y Triple Negativo en este grupo. Confirmamos hasta 7 veces más riesgo de muerte en el subtipo Luminal B y hasta 6 veces en el Triple Negativo. En pacientes con afectación ganglionar (N1-2) se mantiene esta diferencia de riesgo, casi 5 veces en neoplasias Erb-B2 y Triple Negativo y casi 3 en las Luminales B, pero en menor magnitud.

Ante el sorprendente incremento de riesgo que observamos en los tumores LB-N0 (sin afectación ganglionar) revisamos este subgrupo en nuestra muestra. Debido al pequeño número de pacientes, cualquier método analítico estadístico utilizado no

consigue la significación estadística por la limitación inherente a la “n” de la muestra (tamaño muestral).

Haciendo esta salvedad, en este subgrupo estudiado consideramos que lo “no significativamente estadístico” no es sinónimo de “clínicamente irrelevante”.

Hemos intentado dilucidar qué variable le confiere el peor pronóstico al subtipo Luminal B: Ki-67, la expresión de Her2-neu o la ausencia de expresión del receptor de progesterona. Los niveles elevados de Ki-67 se han asociado al doble de recaídas y al triple de muertes por cáncer de mama en el subtipo Luminal B sin afectación ganglionar. Extraordinariamente, se han observado más recaídas y más muertes por cáncer de mama en el subgrupo de pacientes con ausencia de expresión de Her2-neu. Revisando la expresión del receptor de progesterona, se han visto más recaídas en el grupo de mujeres que lo expresaban, sin diferencia en la mortalidad con las que no lo expresaban. Esto nos induce a interpretar que, en nuestra muestra, la agresividad biológica del subtipo Luminal B viene derivada de la expresión de altos niveles de Ki-67.

En relación al subtipo Triple Negativo, podemos diferenciarlo en Basal-Like y no Basal-Like según la expresión por inmunohistoquímica de CK 5/6 y EGFR⁽³²⁷⁾. Muchas investigaciones no han hecho esta distinción y han utilizado Triple Negativo y Basal-Like como sinónimos frecuentemente, pero ya Sorlie había definido el diferente pronóstico y agresividad biológica de los tumores Basal-Like y de los Normal-Like⁽¹⁹⁶⁾.

En nuestro estudio hemos dividido por inmunohistoquímica ambos subgrupos y hemos analizado las recaídas y la supervivencia. Incidiendo de nuevo en el bajo número de pacientes en cada subgrupo que limita el alcance de la significación estadística al analizarlos, observamos que existen diferencias. Globalmente, hemos encontrado más muertes en tumores Basal-Like frente a no Basal-Like (23% versus 18%), sin embargo las recaídas han presentado la proporción inversa (25% versus 37%). Es decir, aunque los no Basal-like recaen, parece que su comportamiento biológico es menos agresivo y que no presentan un corto intervalo entre la recaída y la muerte, al contrario que los Basal-Like ^(341, 359, 362). Desglosando por afectación ganglionar, en pacientes sin afectación axilar, parecen observarse más recaídas en Basal-Like (22% versus 12.5%) y también más muertes (22%). En el grupo no Basal-Like-NO (sin invasión de la axila) no había fallecido ninguna paciente por cáncer de mama, aunque hubiera recaído. En pacientes con afectación ganglionar se ven más recaídas (65% versus 31%) y más mortalidad (40% versus 26%) en el tipo no Basal-Like, debido a la existencia de un mayor número de pacientes en este subgrupo que presentaban de 4 a 9 ganglios afectados (N2) con respecto al Basal-Like (8 de 29 frente a 1 de 22 pacientes respectivamente). Estos resultados reflejan que poder caracterizar mejor el subtipo Triple Negativo nos ayudaría a definir mejor el pronóstico.

Para evaluar si los subtipos tumorales, ajustados por tamaño tumoral, afectación ganglionar, grado de diferenciación y expresión de Ki-67, mantienen su valor pronóstico, diseñamos un modelo estadístico de factores pronósticos para

nuestra muestra. Utilizamos los parámetros clásicos que previamente habían mantenido su valor pronóstico en el análisis multivariante y los subtipos tumorales y realizamos un nuevo análisis multivariante.

Descubrimos en nuestro estudio que el subtipo Triple Negativo resultó ser un factor pronóstico independiente de supervivencia, elevando 3.5 veces el riesgo de muerte respecto a Luminal A, al igual que el grado III de diferenciación y cualquier tamaño tumoral y afectación ganglionar.

Confirmamos entonces la mayor agresividad biológica intrínseca de este subtipo tumoral que refieren las investigaciones referidas previamente ^(171, 194, 330, 336-339, 342-343, 355-356, 368, 371-372), independientemente del grado de diferenciación tumoral y, aún en tumores de pequeño tamaño y ausencia de afectación ganglionar. Este dato demuestra un valor pronóstico que no se debe desdeñar a la hora de decidir el tratamiento complementario del cáncer de mama resecado.

7. CONCLUSIONES

1. Comprobamos que en nuestra muestra, de las variables pronósticas clásicas, el tamaño tumoral ($p=0.01$), la afectación ganglionar ($p<0.01$) y el grado III de diferenciación ($p=0.01$) son factores pronósticos independientes de supervivencia en pacientes intervenidas de cáncer de mama.
2. De los factores pronósticos auxiliares pendientes de validación, el antígeno Ki-67, marcador de proliferación celular, se demuestra en nuestro estudio como un factor pronóstico independiente de otras variables clásicas ($p<0.01$).
3. La clasificación en subtipos tumorales mediante parámetros inmunohistoquímicos nos permite diferenciar neoplasias con diferente comportamiento biológico, agresividad y riesgo de muerte ($p<0.001$).
4. Dentro de los subtipos tumorales intrínsecos definidos por técnicas inmunohistoquímicas en nuestra población analizada, el subtipo Triple Negativo constituye un factor pronóstico independiente de muerte por cáncer de mama ($p=0.04$).
5. El fenotipo Basal-Like determinado por la expresión de CK 5/6 en pacientes del grupo Triple Negativo, se asocia a mayor mortalidad en mujeres con cáncer de mama sin afectación ganglionar ($p=0.049$).

6. En el grupo de pacientes sin afectación ganglionar pertenecientes al subtipo luminal, pertenecer al subtipo Luminal B les confiere peor pronóstico, en relación con una mayor expresión de marcadores de proliferación celular relacionados con la agresividad biológica del tumor ($p < 0.001$).

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Pollan M, Michelena MJ, Ardanaz E, Izquierdo A, Sanchez-Perez MJ, Torrella A. Breast cancer incidence in Spain before, during and after the implementation of screening programmes. *Ann Oncol.* 2010; (Suppl 3):97-102.
2. Goldhirsch A, Ingle JN, Gelber RD, Coates AS, Thurlimann B, Senn HJ. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009. *Ann Oncol.* 2009;20:1319-29.
3. Olivotto IA, Bajdik CD, Ravdin PM, Speers CH, Coldman AJ, Norris BD, et al. Population-based validation of the prognostic model ADJUVANT! for early breast cancer. *J Clin Oncol.* 2005;23:2716-25.
4. Perou CM, Borresen-Dale AL. Systems Biology and Genomics of Breast Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* doi 10.1101/cshperspect.a003293
5. Bauer K, Parise C, Caggiano V. Use of ER/PR/HER2 subtypes in conjunction with the 2007 St Gallen Consensus Statement for early breast cancer. *BMC Cancer.* 2010;10:228.
6. Cabanes A, Vidal E, Aragonés N, Perez-Gomez B, Pollan M, Lope V, et al. Cancer mortality trends in Spain: 1980-2007. *Ann Oncol.* 2010;(Suppl 3):14-20.
7. Anna Cabanes-Domenech BP-G, Nuria Aragonés, Marina Pollán, Gonzalo López-Abente. La situación del cáncer en España, 1975-2006. Madrid: Instituto de Salud Carlos III, 2009.
8. Olier-Gárate C., Jara-Sánchez C., Romero-La Orden N., et al. Epidemiología y Factores Pronósticos del Cáncer de Mama. *Rev Cancer* 2009;23:1-9.
9. Pollan M, Pastor-Barriuso R, Ardanaz E, Arguelles M, Martos C, Galceran J, et al. Recent changes in breast cancer incidence in Spain, 1980-2004. *J Natl Cancer Inst.* 2009;101:1584-91.
10. Pollan M. Epidemiology of breast cancer in young women. *Breast Cancer Res Treat.* 2010; (Suppl 1):3-6.
11. Sanchez MJ, Payer T, De Angelis R, Larranaga N, Capocaccia R, Martinez C. Cancer incidence and mortality in Spain: estimates and projections for the period 1981-2012. *Ann Oncol.* 2010; (Suppl 3):30-6.
12. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). El cancer en España.com. 2010; <http://www.seom.org/prensa/el-cancer-en-espanyacom>].
13. Sant M, Allemani C, Santaquilani M, Knijn A, Marchesi F, Capocaccia R. EURO CARE-4. Survival of cancer patients diagnosed in 1995-1999. Results and commentary. *Eur J Cancer.* 2009;45:931-91.

14. Verdecchia A, Francisci S, Brenner H, Gatta G, Micheli A, Mangone L, et al. Recent cancer survival in Europe: a 2000-02 period analysis of EURO CARE-4 data. *Lancet Oncol.* 2007;8:784-96.
15. Izquierdo A, Gispert R, Saladie F, Espinas JA. Analysis of cancer incidence, survival and mortality according to the main tumoral localizations, 1985-2019: Breast cancer. *Med Clin (Barc).* 2008;(Suppl 1):50-2.
16. Consellería de Sanidad. Plan Oncológico de Galicia 2002-2005. In: Consellería de Sanidad. Editor: Xunta de Galicia; 2002.
17. Berry DA, Cronin KA, Plevritis SK, Fryback DG, Clarke L, Zelen M, et al. Effect of screening and adjuvant therapy on mortality from breast cancer. *N Engl J Med.* 2005;353:1784-92.
18. Gotzsche PC. Screening and breast cancer. *N Engl J Med.* 2006;354:767-9.
19. Silverstein MJ, Lagios MD, Martino S, Lewinsky BS, Craig PH, Beron PJ, et al. Outcome after invasive local recurrence in patients with ductal carcinoma in situ of the breast. *J Clin Oncol.* 1998;16:1367-73.
20. Li CI, Malone KE, Saltzman BS, Daling JR. Risk of invasive breast carcinoma among women diagnosed with ductal carcinoma in situ and lobular carcinoma in situ, 1988-2001. *Cancer.* 2006;106:2104-12.
21. Rodrigues N, Carter D, Dillon D, Parisot N, Choi DH, Haffty BG. Correlation of clinical and pathologic features with outcome in patients with ductal carcinoma in situ of the breast treated with breast-conserving surgery and radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2002;54:1331-5.
22. Silverstein MJ, Lagios MD, Craig PH, Waisman JR, Lewinsky BS, Colburn WJ, et al. A prognostic index for ductal carcinoma in situ of the breast. *Cancer.* 1996;77:2267-74.
23. Di Saverio S, Catena F, Santini D, Ansaloni L, Fogacci T, Mignani S, et al. 259 Patients with DCIS of the breast applying USC/Van Nuys prognostic index: a retrospective review with long term follow up. *Breast Cancer Res Treat.* 2008;109:405-16.
24. Boyages J, Delaney G, Taylor R. Predictors of local recurrence after treatment of ductal carcinoma in situ: a meta-analysis. *Cancer.* 1999;85:616-28.
25. Zafrani B, Vielh P, Fourquet A, Mosseri V, Durand JC, Salmon RJ, et al. Conservative treatment of early breast cancer: prognostic value of the ductal in situ component and other pathological variables on local control and survival. Long-term results. *Eur J Cancer Clin Oncol.* 1989;25:1645-50.

26. Chen S, Parmigiani G. Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 penetrance. *J Clin Oncol.* 2007;25:1329-33.
27. Antoniou AC, Easton DF. Risk prediction models for familial breast cancer. *Future Oncol.* 2006;2:257-74.
28. Wooster R, Weber BL. Breast and ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2003;348:2339-47.
29. Pharoah PD, Antoniou A, Bobrow M, Zimmern RL, Easton DF, Ponder BA. Polygenic susceptibility to breast cancer and implications for prevention. *Nat Genet.* 2002;31:33-6.
30. Meijers-Heijboer H, van den Ouweland A, Klijn J, Wasielewski M, de Snoo A, Oldenburg R, et al. Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2(*)1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. *Nat Genet.* 2002;31:55-9.
31. Dumitrescu RG, Cotarla I. Understanding breast cancer risk -- where do we stand in 2005? *J Cell Mol Med.* 2005;9:208-21.
32. Parazzini F, La Vecchia C, Negri E, Franceschi S, Tozzi L. Lifelong menstrual pattern and risk of breast cancer. *Oncology.* 1993;50:222-5.
33. Pike MC, Pearce CL, Wu AH. Prevention of cancers of the breast, endometrium and ovary. *Oncogene.* 2004;23:6379-91.
34. Rosenberg L, Boggs DA, Wise LA, Adams-Campbell LL, Palmer JR. Oral contraceptive use and estrogen/progesterone receptor-negative breast cancer among African American women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010;19:2073-9.
35. Ma H, Wang Y, Sullivan-Halley J, Weiss L, Marchbanks PA, Spirtas R, et al. Use of four biomarkers to evaluate the risk of breast cancer subtypes in the women's contraceptive and reproductive experiences study. *Cancer Res.* 2010;70:575-87.
36. Bernstein L. The risk of breast, endometrial and ovarian cancer in users of hormonal preparations. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2006;98:288-96.
37. Ravdin PM, Cronin KA, Howlader N, Berg CD, Chlebowski RT, Feuer EJ, et al. The decrease in breast-cancer incidence in 2003 in the United States. *N Engl J Med.* 2007;356:1670-4.
38. Turner LB. A meta-analysis of fat intake, reproduction, and breast cancer risk: An evolutionary perspective. *Am J Hum Biol.* 2011;23:601-8.
39. Willett WC. Fat, energy and breast cancer. *J Nutr.* 1997;(Suppl 5):921S-3S.
40. Sieri S, Krogh V, Ferrari P, Berrino F, Pala V, Thiebaut AC, et al. Dietary fat and breast cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Am J Clin Nutr.* 2008;88:1304-12.

41. Thiebaut AC, Kipnis V, Chang SC, Subar AF, Thompson FE, Rosenberg PS, et al. Dietary fat and postmenopausal invasive breast cancer in the National Institutes of Health-AARP Diet and Health Study cohort. *J Natl Cancer Inst.* 2007;99:451-62.
42. Suzuki R, Iwasaki M, Inoue M, Sasazuki S, Sawada N, Yamaji T, et al. Alcohol consumption-associated breast cancer incidence and potential effect modifiers: the Japan Public Health Center-based Prospective Study. *Int J Cancer.* 2010;127:685-95.
43. Singletary KW, Gapstur SM. Alcohol and breast cancer: review of epidemiologic and experimental evidence and potential mechanisms. *JAMA.* 2001;286:2143-51.
44. Longnecker MP. Alcoholic beverage consumption in relation to risk of breast cancer: meta-analysis and review. *Cancer Causes Control.* 1994;5:73-82.
45. Messina M, McCaskill-Stevens W, Lampe JW. Addressing the soy and breast cancer relationship: review, commentary, and workshop proceedings. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98:1275-84.
46. Hilakivi-Clarke L, Andrade JE, Helferich W. Is soy consumption good or bad for the breast? *J Nutr.* 2010;140:2326S-34S.
47. Dong JY, Qin LQ. Soy isoflavones consumption and risk of breast cancer incidence or recurrence: a meta-analysis of prospective studies. *Breast Cancer Res Treat.* 2011;125:315-23.
48. Ursin G, Hovanessian-Larsen L, Parisky YR, Pike MC, Wu AH. Greatly increased occurrence of breast cancers in areas of mammographically dense tissue. *Breast Cancer Res.* 2005;7:R605-8.
49. Boyd NF, Guo H, Martin LJ, Sun L, Stone J, Fishell E, et al. Mammographic density and the risk and detection of breast cancer. *N Engl J Med.* 2007;356:227-36.
50. Ronckers CM, Erdmann CA, Land CE. Radiation and breast cancer: a review of current evidence. *Breast Cancer Res.* 2005;7:21-32.
51. Ng AK, Travis LB. Radiation therapy and breast cancer risk. *J Natl Compr Canc Netw.* 2009;7:1121-8.
52. John EM, Phipps AI, Knight JA, Milne RL, Dite GS, Hopper JL, et al. Medical radiation exposure and breast cancer risk: findings from the Breast Cancer Family Registry. *Int J Cancer.* 2007;121:386-94.
53. Nelson HD, Tyne K, Naik A, Bougatsos C, Chan BK, Humphrey L. Screening for breast cancer: an update for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med.* 2009;151:727-37.

-
54. Friedenreich CM, Woolcott CG, McTiernan A, Ballard-Barbash R, Brant RF, Stanczyk FZ, et al. Alberta physical activity and breast cancer prevention trial: sex hormone changes in a year-long exercise intervention among postmenopausal women. *J Clin Oncol.* 2010;28:1458-66.
 55. Chan MF, Dowsett M, Folkard E, Bingham S, Wareham N, Luben R, et al. Usual physical activity and endogenous sex hormones in postmenopausal women: the European prospective investigation into cancer-norfolk population study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007;16:900-5.
 56. Clark GM. Do we really need prognostic factors for breast cancer? *Breast Cancer Res Treat.* 1994;30:117-26.
 57. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med.* 2000;124:966-78.
 58. Early stage breast cancer. Consensus Statement. 1990;8:1-19.
 59. Dominguez MA., Marcos M., Meiriño R., Villafranca., Dueñas MT., Arias F., et al. factores pronósticos y predictivos en el cáncer de mama temprano. *Anales Sis San Navarra.* 2001;(Supl 1):99-110.
 60. Bonadonna G. Karmofsky memorial lecture. Conceptual and practical advances in the management of breast cancer. *J Clin Oncol.* 1989;7:1380-97.
 61. Clark GM, McGuire WL. New biologic prognostic factors in breast cancer. *Oncology (Williston Park).* 1989;3:49-54.
 62. Jotti GS. New prognostic indicators in resectable breast cancer (review). *Anticancer Res.* 1989;9:1227-32.
 63. Merkel DE, Osborne CK. Prognostic factors in breast cancer. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1989;3:641-52.
 64. Saccani Jotti G, Bonadonna G. The pathologist and the clinical oncologist: a new effective partnership in assessing tumor prognosis. *Eur J Cancer Clin Oncol.* 1989;25:585-98.
 65. Goldhirsch A, Wood WC, Senn HJ, Glick JH, Gelber RD. Meeting highlights: international consensus panel on the treatment of primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1995;87:1441-5.
 66. Henson DE, Fielding LP, Grignon DJ, Page DL, Hammond ME, Nash G, et al. College of American Pathologists Conference XXVI on clinical relevance of prognostic markers in solid

- tumors. Summary. Members of the Cancer Committee. Arch Pathol Lab Med. 1995;119:1109-12.
67. Bast RC., Desch CE., Ravdin PM., Smith TJ. Clinical practices guidelines of the use of tumor markers in breast and colorectal cancer: Adopted on may 17, 1996 by de American Society of Clinical Oncology. J Clin Oncol. 1996;14:2843-77.
68. Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Senn HJ. Meeting highlights: International Consensus Panel on the Treatment of Primary Breast Cancer. J Natl Cancer Inst. 1998;90:1601-8.
69. Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, Coates AS, Thurlimann B, Senn HJ. Progress and promise: highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2007. Ann Oncol. 2007;18:1133-44.
70. Love RR, Duc NB, Dinh NV, Quy TT, Xin Y, Havighurst TC. Young age as an adverse prognostic factor in premenopausal women with operable breast cancer. Clin Breast Cancer. 2002;2:294-8.
71. Dubsy PC, Gnant MF, Taucher S, Roka S, Kandioler D, Pichler-Gebhard B, et al. Young age as an independent adverse prognostic factor in premenopausal patients with breast cancer. Clin Breast Cancer. 2002;3:65-72.
72. Moss SM, Cuckle H, Evans A, Johns L, Waller M, Bobrow L. Effect of mammographic screening from age 40 years on breast cancer mortality at 10 years' follow-up: a randomised controlled trial. Lancet. 2006;368:2053-60.
73. Kwon JH, Kim YJ, Lee KW, Oh DY, Park SY, Kim JH, et al. Triple negativity and young age as prognostic factors in lymph node-negative invasive ductal carcinoma of 1 cm or less. BMC Cancer. 2010;10:557.
74. Albain KS, Allred DC, Clark GM. Breast cancer outcome and predictors of outcome: are there age differentials? J Natl Cancer Inst Monogr. 1994(16):35-42.
75. Nixon AJ, Neuberg D, Hayes DF, Gelman R, Connolly JL, Schnitt S, et al. Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer. J Clin Oncol. 1994;12:888-94.
76. Arriagada R, Le MG, Dunant A, Tubiana M, Contesso G. Twenty-five years of follow-up in patients with operable breast carcinoma: correlation between clinicopathologic factors and the risk of death in each 5-year period. Cancer. 2006;106:743-50.
77. van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, Dai H, Hart AA, Voskuil DW, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. N Engl J Med. 2002;347:1999-2009.

-
78. Paluch-Shimon S, Wolf I, Sadetzki S, Gluck I, Oberman B, Zvi Papa M, et al. Association Between Very Young Age and Adverse Characteristics of Breast Cancer at Presentation Amongst Israeli Women. *Am J Clin Oncol*. 2011;34:219-22.
79. Yoshida M, Shimizu C, Fukutomi T, Tsuda H, Kinoshita T, Akashi-Tanaka S, et al. Prognostic factors in young Japanese women with breast cancer: prognostic value of age at diagnosis. *Jpn J Clin Oncol*. 2011;41:180-9.
80. Kim K, Chie EK, Han W, Noh DY, Oh DY, Im SA, et al. Age <40Years is an independent prognostic factor predicting inferior overall survival in patients treated with breast conservative therapy. *Breast J*. 2011;17:75-8.
81. Mangia A, Malfettone A, Simone G, Darvishian F. Old and new concepts in histopathological characterization of familial breast cancer. *Ann Oncol*. 2011;(Suppl 1):24-30.
82. Metcalfe K, Lubinski J, Lynch HT, Ghadirian P, Foulkes WD, Kim-Sing C, et al. Family history of cancer and cancer risks in women with BRCA1 or BRCA2 mutations. *J Natl Cancer Inst*. 2010;102:1874-8.
83. Ghorbel I, Kanoun S, Kallel A, Belaid A, Azoury F, Heymann S, et al. Early breast cancer without axillary lymph node involvement. *Cancer Radiother*. 2010;(Suppl 1):S127-35.
84. Kelly CM, Hortobagyi GN. Adjuvant chemotherapy in early-stage breast cancer: what, when, and for whom? *Surg Oncol Clin N Am*. 2010;19:649-68.
85. Danforth D., Lichter AS., Lippmann ME. The diagnosis of breast cancer. In: Lippmann ME. Lichter AS. Danforth D. editors. *Diagnosis and Management of Breast Cancer*. Philadelphia: WB Saunders; 1988.
86. Fisher B, Wolmark N, Bauer M, Redmond C, Gebhardt M. The accuracy of clinical nodal staging and of limited axillary dissection as a determinant of histologic nodal status in carcinoma of the breast. *Surg Gynecol Obstet*. 1981;152:765-72.
87. Denoix P. [Not available]. *Bull Inst Natl Hyg*. 1946;1:12-7.
88. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol*. 2010;17:1471-4.
89. Veronesi U, Zurrada S, Viale G, Galimberti V, Arnone P, Nole F. Rethinking TNM: a breast cancer classification to guide to treatment and facilitate research. *Breast J*. 2009;15:291-5.
90. Park YH, Lee SJ, Cho EY, Choi YL, Lee JE, Nam SJ, et al. Clinical relevance of TNM staging system according to breast cancer subtypes. *Ann Oncol*. 2011;22:1554-60.

91. Rosen PP, Groshen S, Kinne DW. Prognosis in T2N0M0 stage I breast carcinoma: a 20-year follow-up study. *J Clin Oncol.* 1991;9:1650-61.
92. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer.* 1989;63:181-7.
93. Fisher B, Dignam J, Tan-Chiu E, Anderson S, Fisher ER, Wittliff JL, et al. Prognosis and treatment of patients with breast tumors of one centimeter or less and negative axillary lymph nodes. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93:112-20.
94. Chia SK, Speers CH, Bryce CJ, Hayes MM, Olivotto IA. Ten-year outcomes in a population-based cohort of node-negative, lymphatic, and vascular invasion-negative early breast cancers without adjuvant systemic therapies. *J Clin Oncol.* 2004;22:1630-7.
95. Arriagada R, Rutqvist LE, Johansson H, Kramar A, Rotstein S. Predicting distant dissemination in patients with early breast cancer. *Acta Oncol.* 2008;47:1113-21.
96. Moatamed NA, Apple SK. Extensive sampling changes T-staging of infiltrating lobular carcinoma of breast: a comparative study of gross versus microscopic tumor sizes. *Breast J.* 2006;12:511-7.
97. Berg WA, Gutierrez L, NessAiver MS, Carter WB, Bhargavan M, Lewis RS, et al. Diagnostic accuracy of mammography, clinical examination, US, and MR imaging in preoperative assessment of breast cancer. *Radiology.* 2004;233:830-49.
98. Pritt B, Ashikaga T, Oppenheimer RG, Weaver DL. Influence of breast cancer histology on the relationship between ultrasound and pathology tumor size measurements. *Mod Pathol.* 2004;17:905-10.
99. Behjatnia B, Sim J, Bassett LW, Moatamed NA, Apple SK. Does size matter? Comparison study between MRI, gross, and microscopic tumor sizes in breast cancer in lumpectomy specimens. *Int J Clin Exp Pathol.* 2010;3:303-9.
100. Weiss RB, Woolf SH, Demakos E, Holland JF, Berry DA, Falkson G, et al. Natural history of more than 20 years of node-positive primary breast carcinoma treated with cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil-based adjuvant chemotherapy: a study by the Cancer and Leukemia Group B. *J Clin Oncol.* 2003;21:1825-35.
101. Soerjomataram I, Louwman MW, Ribot JG, Roukema JA, Coebergh JW. An overview of prognostic factors for long-term survivors of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2008;107:309-30.
102. Palmer MK, Lythgoe JP, Smith A. Prognostic factors in breast cancer. *Br J Surg.* 1982;69:697-8.

103. Fisher ER, Anderson S, Redmond C, Fisher B. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project protocol B-06. 10-year pathologic and clinical prognostic discriminants. *Cancer*. 1993;71:2507-14.
104. Adjuvant systemic therapy for early breast cancer. *Lancet*. 1992 Jan 4;339(8784):27.
105. Lonning PE, Knappskog S, Staalesen V, Chrisanthar R, Lillehaug JR. Breast cancer prognostication and prediction in the postgenomic era. *Ann Oncol*. 2007;18:1293-306.
106. Axelsson CK, Mouridsen HT, Zedeler K. Axillary dissection of level I and II lymph nodes is important in breast cancer classification. The Danish Breast Cancer Cooperative Group (DBCG). *Eur J Cancer*. 1992;28A:1415-8.
107. Cutler SJ, Zippin C, Asire AJ. The prognostic significance of palpable lymph nodes in cancer of the breast. *Cancer*. 1969;23:243-50.
108. Veronesi U, Cascinelli N, Greco M, Bufalino R, Morabito A, Galluzzo D, et al. Prognosis of breast cancer patients after mastectomy and dissection of internal mammary nodes. *Ann Surg*. 1985;202:702-7.
109. Noguchi M, Ohta N, Thomas M, Kitagawa H, Miyazaki I. Risk of internal mammary lymph node metastases and its prognostic value in breast cancer patients. *J Surg Oncol*. 1993;52:26-30.
110. Veronesi U, Arnone P, Veronesi P, Galimberti V, Luini A, Rotmensz N, et al. The value of radiotherapy on metastatic internal mammary nodes in breast cancer. Results on a large series. *Ann Oncol*. 2008;19:1553-60.
111. Yao MS, Kurland BF, Smith AH, Schubert EK, Dunnwald LK, Byrd DR, et al. Internal mammary nodal chain drainage is a prognostic indicator in axillary node-positive breast cancer. *Ann Surg Oncol*. 2007;14:2985-93.
112. Chen SC, Chen MF, Hwang TL, Chao TC, Lo YF, Hsueh S, et al. Prediction of supraclavicular lymph node metastasis in breast carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2002;52:614-9.
113. Brito RA, Valero V, Buzdar AU, Booser DJ, Ames F, Strom E, et al. Long-term results of combined-modality therapy for locally advanced breast cancer with ipsilateral supraclavicular metastases: The University of Texas M.D. Anderson Cancer Center experience. *J Clin Oncol*. 2001;19:628-33.
114. Olivetto IA, Chua B, Allan SJ, Speers CH, Chia S, Ragaz J. Long-term survival of patients with supraclavicular metastases at diagnosis of breast cancer. *J Clin Oncol*. 2003;21:851-4.

115. Ilknur GB, Hilmi A, Tulay C, Oguz C, Selma S, Serdar S, et al. The importance of extracapsular extension of axillary lymph node metastases in breast cancer. *Tumori*. 2004;90:107-11.
116. Hetelekidis S, Schnitt SJ, Silver B, Manola J, Bornstein BA, Nixon AJ, et al. The significance of extracapsular extension of axillary lymph node metastases in early-stage breast cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2000;46:31-4.
117. Kuru B, Camlibel M, Dinc S, Gulcelik MA, Alagol H. Prognostic significance of axillary node and infraclavicular lymph node status after mastectomy. *Eur J Surg Oncol*. 2003;29:839-44.
118. Guven HE, Bulak H, Turanli S, Oral S. Clinical importance of preoperative detection of the apical lymph node metastasis in patients with breast carcinoma. *Singapore Med J*. 2007;48:31-3.
119. Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg*. 1994;220:391-8.
120. Albertini JJ, Lyman GH, Cox C, Yeatman T, Balducci L, Ku N, et al. Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the patient with breast cancer. *JAMA*. 1996;276:1818-22.
121. Veronesi U, Paganelli G, Viale G, Luini A, Zurrida S, Galimberti V, et al. A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer. *N Engl J Med*. 2003;349:546-53.
122. Schulze T, Mucke J, Markwardt J, Schlag PM, Bembenek A. Long-term morbidity of patients with early breast cancer after sentinel lymph node biopsy compared to axillary lymph node dissection. *J Surg Oncol*. 2006;93:109-19.
123. Lyman GH, Giuliano AE, Somerfield MR, Benson AB, 3rd, Bodurka DC, Burstein HJ, et al. American Society of Clinical Oncology guideline recommendations for sentinel lymph node biopsy in early-stage breast cancer. *J Clin Oncol*. 2005;23:7703-20.
124. Pinero A, Gimenez J, Merck B, Vazquez C. Consensus meeting on sentinel lymph node biopsy in breast cancer. *Spanish society of mastology and breast disease. Cir Esp*. 2007;82:146-9.
125. Poletti P, Fenaroli P, Milesi A, Paludetti A, Mangiarotti S, Virota G, et al. Axillary recurrence in sentinel lymph node-negative breast cancer patients. *Ann Oncol*. 2008;19:1842-6.

126. Zavagno G, De Salvo GL, Scalco G, Bozza F, Barutta L, Del Bianco P, et al. A Randomized clinical trial on sentinel lymph node biopsy versus axillary lymph node dissection in breast cancer: results of the Sentinella/GIVOM trial. *Ann Surg.* 2008;247:207-13.
127. Veronesi U, Viale G, Paganelli G, Zurrida S, Luini A, Galimberti V, et al. Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: ten-year results of a randomized controlled study. *Ann Surg.* 2010;251:595-600.
128. Giuliano AE, Chung AP. Long-term follow-up confirms the oncologic safety of sentinel node biopsy without axillary dissection in node-negative breast cancer patients. *Ann Surg.* 2010;251:601-3.
129. Pepels MJ, Vestjens JH, de Boer M, Smidt M, van Diest PJ, Borm GF, et al. Safety of avoiding routine use of axillary dissection in early stage breast cancer: a systematic review. *Breast Cancer Res Treat.* 2011;125:301-13.
130. Chagpar A, Middleton LP, Sahin AA, Meric-Bernstam F, Kuerer HM, Feig BW, et al. Clinical outcome of patients with lymph node-negative breast carcinoma who have sentinel lymph node micrometastases detected by immunohistochemistry. *Cancer.* 2005;103:1581-6.
131. de Boer M, van Deurzen CH, van Dijck JA, Borm GF, van Diest PJ, Adang EM, et al. Micrometastases or isolated tumor cells and the outcome of breast cancer. *N Engl J Med.* 2009;361:653-63.
132. Reed J, Rosman M, Verbanac KM, Mannie A, Cheng Z, Taft L. Prognostic implications of isolated tumor cells and micrometastases in sentinel nodes of patients with invasive breast cancer: 10-year analysis of patients enrolled in the prospective East Carolina University/Anne Arundel Medical Center Sentinel Node Multicenter Study. *J Am Coll Surg.* 2009;208:333-40.
133. de Boer M, van Dijck JA, Bult P, Borm GF, Tjan-Heijnen VC. Breast cancer prognosis and occult lymph node metastases, isolated tumor cells, and micrometastases. *J Natl Cancer Inst.* 2010;102:410-25.
134. Pernas S, Gil M, Benitez A, Bajen MT, Climent F, Pla MJ, et al. Avoiding axillary treatment in sentinel lymph node micrometastases of breast cancer: a prospective analysis of axillary or distant recurrence. *Ann Surg Oncol.* 2010;17:772-7.
135. Yegiyants S, Romero LM, Haigh PI, DiFronzo LA. Completion axillary lymph node dissection not required for regional control in patients with breast cancer who have micrometastases in a sentinel node. *Arch Surg.* 2010;145:564-9.
136. Northridge ME, Rhoads GG, Wartenberg D, Koffman D. The importance of histologic type on breast cancer survival. *J Clin Epidemiol.* 1997;50:283-90.

137. Ellis IO, Galea M, Broughton N, Locker A, Blamey RW, Elston CW. Pathological prognostic factors in breast cancer. II. Histological type. Relationship with survival in a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1992;20:479-89.
138. Rakha EA, Gill MS, El-Sayed ME, Khan MM, Hodi Z, Blamey RW, et al. The biological and clinical characteristics of breast carcinoma with mixed ductal and lobular morphology. *Breast Cancer Res Treat*. 2009;114:243-50.
139. Sinha PS, Bendall S, Bates T. Does routine grading of invasive lobular cancer of the breast have the same prognostic significance as for ductal cancers? *Eur J Surg Oncol*. 2000;26:733-7.
140. Pereira H, Pinder SE, Sibbering DM, Galea MH, Elston CW, Blamey RW, et al. Pathological prognostic factors in breast cancer. IV: Should you be a typer or a grader? A comparative study of two histological prognostic features in operable breast carcinoma. *Histopathology*. 1995;27:219-26.
141. Rakha EA, Lee AH, Evans AJ, Menon S, Assad NY, Hodi Z, et al. Tubular carcinoma of the breast: further evidence to support its excellent prognosis. *J Clin Oncol*. 2010;28:99-104.
142. Hanagiri T, Ono K, Baba T, So T, Yamasaki M, Nagata Y, et al. Clinicopathologic characteristics of mucinous carcinoma of the breast. *Int Surg*. 2010;95:126-9.
143. Fisher ER, Anderson S, Tan-Chiu E, Fisher B, Eaton L, Wolmark N. Fifteen-year prognostic discriminants for invasive breast carcinoma: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol-06. *Cancer*. 2001;91(Suppl 8):1679-87.
144. Ranade A, Batra R, Sandhu G, Chitale RA, Balderacchi J. Clinicopathological evaluation of 100 cases of mucinous carcinoma of breast with emphasis on axillary staging and special reference to a micropapillary pattern. *J Clin Pathol*. 2010;63:1043-7.
145. Malyuchik SS, Kiyamova RG. Medullary breast carcinoma. *Exp Oncol*. 2008;30:96-101.
146. Chen LL, Nolan ME, Silverstein MJ, Mihm MC, Jr., Sober AJ, Tanabe KK, et al. The impact of primary tumor size, lymph node status, and other prognostic factors on the risk of cancer death. *Cancer*. 2009;115:5071-83.
147. Ghabach B, Anderson WF, Curtis RE, Huycke MM, Lavigne JA, Dores GM. Adenoid cystic carcinoma of the breast in the United States (1977 to 2006): a population-based cohort study. *Breast Cancer Res*. 2010;12:R54.
148. Tai P, Yu E, Shiels R, Pacella J, Jones K, Sadikov E, et al. Short- and long-term cause-specific survival of patients with inflammatory breast cancer. *BMC Cancer*. 2005;5:137.

149. Li CI, Uribe DJ, Daling JR. Clinical characteristics of different histologic types of breast cancer. *Br J Cancer*. 2005;93:1046-52.
150. Jung SY, Jeong J, Shin SH, Kwon Y, Kim EA, Ko KL, et al. The invasive lobular carcinoma as a prototype luminal A breast cancer: a retrospective cohort study. *BMC Cancer*. 2010;10:664.
151. Marginean F, Rakha EA, Ho BC, Ellis IO, Lee AH. Histological features of medullary carcinoma and prognosis in triple-negative basal-like carcinomas of the breast. *Mod Pathol*. 2010;23:1357-63.
152. Bloom HJ. Prognosis in carcinoma of the breast. *Br J Cancer*. 1950;4:259-88.
153. Bloom HJ. Further studies on prognosis of breast carcinoma. *Br J Cancer*. 1950;4:347-67.
154. Bloom HJ, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer; a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer*. 1957;11:359-77.
155. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991;19:403-10.
156. Galea MH, Blamey RW, Elston CE, Ellis IO. The Nottingham Prognostic Index in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1992;22:207-19.
157. Rakha EA, El-Sayed ME, Lee AH, Elston CW, Grainge MJ, Hodi Z, et al. Prognostic significance of Nottingham histologic grade in invasive breast carcinoma. *J Clin Oncol*. 2008;26:3153-8.
158. Agrawal A, Lee S, Carson M, Narayana SV, Greenhough TJ, Volanakis JE. Site-directed mutagenesis of the phosphocholine-binding site of human C-reactive protein: role of Thr76 and Trp67. *J Immunol*. 1997;158:345-50.
159. Van Belle V, Van Calster B, Brouckaert O, Vanden Bempt I, Pintens S, Harvey V, et al. Qualitative assessment of the progesterone receptor and HER2 improves the Nottingham Prognostic Index up to 5 years after breast cancer diagnosis. *J Clin Oncol*. 2010;28:4129-34.
160. Pathology Reporting of Breast Disease: A Joint Document Incorporating the Third Edition of the NHS Breast Screening Programme's Guidelines for Pathology Reporting in Breast Cancer Screening and the Second Edition of The Royal College of Pathologists' Minimum Dataset for Breast Cancer Histopathology. Sheffield; NHS Cancer Screening Programmes and The Royal College of Pathologists; 2005.

-
161. Ellis IO, Coleman D, Wells C, Kodikara S, Paish EM, Moss S, et al. Impact of a national external quality assessment scheme for breast pathology in the UK. *J Clin Pathol*. 2006;59:138-45.
162. Rakha EA, Reis-Filho JS, Baehner F, Dabbs DJ, Decker T, Eusebi V, et al. Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. *Breast Cancer Res*. 2010;12:207.
163. Schoppmann SF, Bayer G, Aumayr K, Taucher S, Geleff S, Rudas M, et al. Prognostic value of lymphangiogenesis and lymphovascular invasion in invasive breast cancer. *Ann Surg*. 2004;240:306-12.
164. Lee AH, Pinder SE, Macmillan RD, Mitchell M, Ellis IO, Elston CW, et al. Prognostic value of lymphovascular invasion in women with lymph node negative invasive breast carcinoma. *Eur J Cancer*. 2006;42:357-62.
165. Lauria R, Perrone F, Carlomagno C, De Laurentiis M, Morabito A, Gallo C, et al. The prognostic value of lymphatic and blood vessel invasion in operable breast cancer. *Cancer*. 1995;76:1772-8.
166. Hoda SA, Hoda RS, Merlin S, Shamonki J, Rivera M. Issues relating to lymphovascular invasion in breast carcinoma. *Adv Anat Pathol*. 2006;13:308-15.
167. Van den Eynden GG, Van der Auwera I, Van Laere SJ, Colpaert CG, van Dam P, Dirix LY, et al. Distinguishing blood and lymph vessel invasion in breast cancer: a prospective immunohistochemical study. *Br J Cancer*. 2006;94:1643-9.
168. Mirza AN, Mirza NQ, Vlastos G, Singletary SE. Prognostic factors in node-negative breast cancer: a review of studies with sample size more than 200 and follow-up more than 5 years. *Ann Surg*. 2002;235:10-26.
169. Mohammed RA, Martin SG, Gill MS, Green AR, Paish EC, Ellis IO. Improved methods of detection of lymphovascular invasion demonstrate that it is the predominant method of vascular invasion in breast cancer and has important clinical consequences. *Am J Surg Pathol*. 2007;31:1825-33.
170. Mohammed RA, Martin SG, Mahmmod AM, Macmillan RD, Green AR, Paish EC, et al. Objective assessment of lymphatic and blood vascular invasion in lymph node-negative breast carcinoma: findings from a large case series with long-term follow-up. *J Pathol*. 2011;223:358-65.

-
171. Kuroda H, Nakai M, Ohnisi K, Ishida T, Kuroda M, Itoyama S. Vascular invasion in triple-negative carcinoma of the breast identified by endothelial lymphatic and blood vessel markers. *Int J Surg Pathol.* 2010;18:324-9.
172. Lee KC. The "clinical alert" from the National Cancer Institute. *N Engl J Med.* 1988;319:948-9.
173. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet.* 2005;365:1687-717.
174. Urruticoechea A, Smith IE, Dowsett M. Proliferation marker Ki-67 in early breast cancer. *J Clin Oncol.* 2005;23:7212-20.
175. Beresford MJ, Wilson GD, Makris A. Measuring proliferation in breast cancer: practicalities and applications. *Breast Cancer Res.* 2006;8:216.
176. Brown RW, Allred CD, Clark GM, Osborne CK, Hilsenbeck SG. Prognostic value of Ki-67 compared to S-phase fraction in axillary node-negative breast cancer. *Clin Cancer Res.* 1996;2:585-92.
177. Heidebrecht HJ, Buck F, Haas K, Wacker HH, Parwaresch R. Monoclonal antibodies Ki-S3 and Ki-S5 yield new data on the 'Ki-67' proteins. *Cell Prolif.* 1996;29:413-25.
178. Lee AK, Loda M, Mackarem G, Bosari S, DeLellis RA, Heatley GJ, et al. Lymph node negative invasive breast carcinoma 1 centimeter or less in size (T1a,bNOMO): clinicopathologic features and outcome. *Cancer.* 1997;79:761-71.
179. Trihia H, Murray S, Price K, Gelber RD, Golouh R, Goldhirsch A, et al. Ki-67 expression in breast carcinoma: its association with grading systems, clinical parameters, and other prognostic factors--a surrogate marker? *Cancer.* 2003;97:1321-31.
180. de Azambuja E, Cardoso F, de Castro G, Jr., Colozza M, Mano MS, Durbecq V, et al. Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. *Br J Cancer.* 2007;96:1504-13.
181. Guarneri V, Piacentini F, Ficarra G, Frassoldati A, D'Amico R, Giovannelli S, et al. A prognostic model based on nodal status and Ki-67 predicts the risk of recurrence and death in breast cancer patients with residual disease after preoperative chemotherapy. *Ann Oncol.* 2009;20:1193-8.
182. Baselga J, Semiglazov V, van Dam P, Manikhas A, Bellet M, Mayordomo J, et al. Phase II randomized study of neoadjuvant everolimus plus letrozole compared with placebo plus letrozole in patients with estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol.* 2009;27:2630-7.

183. Dowsett M, Smith IE, Ebbs SR, Dixon JM, Skene A, A'Hern R, et al. Prognostic value of Ki67 expression after short-term presurgical endocrine therapy for primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2007;99:167-70.
184. Eiermann W, Paepke S, Appfelstaedt J, Llombart-Cussac A, Eremin J, Vinholes J, et al. Preoperative treatment of postmenopausal breast cancer patients with letrozole: A randomized double-blind multicenter study. *Ann Oncol.* 2001;12:1527-32.
185. Ellis MJ, Tao Y, Luo J, A'Hern R, Evans DB, Bhatnagar AS, et al. Outcome prediction for estrogen receptor-positive breast cancer based on postneoadjuvant endocrine therapy tumor characteristics. *J Natl Cancer Inst.* 2008;100:1380-8.
186. E. Alba LC, J. Albanell, J. De la Haba, J. Chacon, A. Arcusa Lanza, P. Sanchez Rovira, A. Plazaola, J. Lopez Garcia-Asenjo, A. Lluch, on behalf of GEICAM. Chemotherapy (CT) versus hormone therapy (HT) as neoadjuvant treatment in luminal breast cancer: A multicenter, randomized phase II study (GEICAM/2006-03). *J Clin Oncol.* 2010;28:15s.:(suppl; abstr 500).
187. Viale G, Regan MM, Mastropasqua MG, Maffini F, Maiorano E, Colleoni M, et al. Predictive value of tumor Ki-67 expression in two randomized trials of adjuvant chemoendocrine therapy for node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2008;100:207-12.
188. Thurlimann B, Keshaviah A, Coates AS, Mouridsen H, Mauriac L, Forbes JF, et al. A comparison of letrozole and tamoxifen in postmenopausal women with early breast cancer. *N Engl J Med.* 2005;353:2747-57.
189. Coates AS, Keshaviah A, Thurlimann B, Mouridsen H, Mauriac L, Forbes JF, 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;25:486-92.
190. Viale G, Giobbie-Hurder A, Regan MM, Coates AS, Mastropasqua MG, Dell'Orto P, et al. Prognostic and predictive value of centrally reviewed Ki-67 labeling index in postmenopausal women with endocrine-responsive breast cancer: results from Breast International Group Trial 1-98 comparing adjuvant tamoxifen with letrozole. *J Clin Oncol.* 2008;26:5569-75.
191. Roche H, Fumoleau P, Spielmann M, Canon JL, Delozier T, Serin D, et al. Sequential adjuvant epirubicin-based and docetaxel chemotherapy for node-positive breast cancer patients: the FNCLCC PACS 01 Trial. *J Clin Oncol.* 2006;24:5664-71.
192. Penault-Llorca F, Andre F, Sagan C, Lacroix-Triki M, Denoux Y, Verrielle V, et al. Ki67 expression and docetaxel efficacy in patients with estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol.* 2009;27:2809-15.

193. Martin M, Pienkowski T, Mackey J, Pawlicki M, Guastalla JP, Weaver C, et al. Adjuvant docetaxel for node-positive breast cancer. *N Engl J Med*. 2005;352:2302-13.
194. Hugh J, Hanson J, Cheang MC, Nielsen TO, Perou CM, Dumontet C, et al. Breast cancer subtypes and response to docetaxel in node-positive breast cancer: use of an immunohistochemical definition in the BCIRG 001 trial. *J Clin Oncol*. 2009;27:1168-76.
195. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406:747-52.
196. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:10869-74.
197. Sotiriou C, Neo SY, McShane LM, Korn EL, Long PM, Jazaeri A, et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100:10393-8.
198. van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature*. 2002;415:530-6.
199. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100:8418-23.
200. Paik S, Shak S, Tang G, Kim C, Baker J, Cronin M, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med*. 2004;351:2817-26.
201. Hu Z, Fan C, Oh DS, Marron JS, He X, Qaqish BF, et al. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. *BMC Genomics*. 2006;7:96.
202. Sotiriou C, Pusztai L. Gene-expression signatures in breast cancer. *N Engl J Med*. 2009;360:790-800.
203. Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101:736-50.
204. Harris L, Fritsche H, Mennel R, Norton L, Ravdin P, Taube S, et al. American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25:5287-312.
205. Thor AD, Moore DH, II, Edgerton SM, Kawasaki ES, Reihnsaus E, Lynch HT, et al. Accumulation of p53 tumor suppressor gene protein: an independent marker of prognosis in breast cancers. *J Natl Cancer Inst*. 1992;84:845-55.

206. Allred DC, Clark GM, Elledge R, Fuqua SA, Brown RW, Chamness GC, 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;85:200-6.
207. Pharoah PD, Day NE, Caldas C. Somatic mutations in the p53 gene and prognosis in breast cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer.* 1999;80:1968-73.
208. Jung SY, Jeong J, Shin SH, Kwon Y, Kim EA, Ko KL, et al. Accumulation of p53 determined by immunohistochemistry as a prognostic marker in node negative breast cancer; analysis according to st gallen consensus and intrinsic subtypes. *J Surg Oncol.* 2011;103:207-11.
209. Westley BR, May FE. Cathepsin D and breast cancer. *Eur J Cancer.* 1996;32A:15-24.
210. Tandon AK, Clark GM, Chamness GC, Chirgwin JM, McGuire WL. Cathepsin D and prognosis in breast cancer. *N Engl J Med.* 1990;322:297-302.
211. Siitonen SM, Kononen JT, Helin HJ, Rantala IS, Holli KA, Isola JJ. Reduced E-cadherin expression is associated with invasiveness and unfavorable prognosis in breast cancer. *Am J Clin Pathol.* 1996;105:394-402.
212. Ravdin PM, Tandon AK, Allred DC, Clark GM, Fuqua SA, Hilsenbeck SH, et al. Cathepsin D by western blotting and immunohistochemistry: failure to confirm correlations with prognosis in node-negative breast cancer. *J Clin Oncol.* 1994;12:467-74.
213. Ravdin PM, de Moor CA, Hilsenbeck SG, Samoszuk MK, Vendely PM, Clark GM. Lack of prognostic value of cathepsin D levels for predicting short term outcomes of breast cancer patients. *Cancer Lett.* 1997;116:177-83.
214. Brouillet JP, Theillet C, Maudelonde T, Defrenne A, Simony-Lafontaine J, Sertour J, et al. Cathepsin D assay in primary breast cancer and lymph nodes: relationship with c-myc, c-erbB-2 and int-2 oncogene amplification and node invasiveness. *Eur J Cancer.* 1990;26:437-41.
215. Guerin M, Barrois M, Terrier MJ, Spielmann M, Riou G. Overexpression of either c-myc or c-erbB-2/neu proto-oncogenes in human breast carcinomas: correlation with poor prognosis. *Oncogene Res.* 1988;3:21-31.
216. Varley JM, Swallow JE, Brammar WJ, Whittaker JL, Walker RA. Alterations to either c-erbB-2(neu) or c-myc proto-oncogenes in breast carcinomas correlate with poor short-term prognosis. *Oncogene.* 1987;1:423-30.
217. Donnellan R, Kleinschmidt I, Chetty R. Cyclin E immunoexpression in breast ductal carcinoma: pathologic correlations and prognostic implications. *Hum Pathol.* 2001;32:89-94.
218. Keyomarsi K, Tucker SL, Buchholz TA, Callister M, Ding Y, Hortobagyi GN, et al. Cyclin E and survival in patients with breast cancer. *N Engl J Med.* 2002;347:1566-75.

-
219. Wang L, Shao ZM. Cyclin e expression and prognosis in breast cancer patients: a meta-analysis of published studies. *Cancer Invest.* 2006;24:581-7.
220. Porter PL, Barlow WE, Yeh IT, Lin MG, Yuan XP, Donato E, et al. p27(Kip1) and cyclin E expression and breast cancer survival after treatment with adjuvant chemotherapy. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98:1723-31.
221. Janicke F, Schmitt M, Pache L, Ulm K, Harbeck N, Hofler H, et al. Urokinase (uPA) and its inhibitor PAI-1 are strong and independent prognostic factors in node-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 1993;24:195-208.
222. Look MP, van Putten WL, Duffy MJ, Harbeck N, Christensen IJ, Thomssen C, 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;94:116-28.
223. Janicke F, Prechtel A, Thomssen C, Harbeck N, Meisner C, Untch M, 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;93:913-20.
224. De Cremoux P, Grandin L, Dieras V, Savignoni A, Degeorges A, Salmon R, et al. Urokinase-type plasminogen activator and plasminogen-activator-inhibitor type 1 predict metastases in good prognosis breast cancer patients. *Anticancer Res.* 2009;29:1475-82.
225. Harbeck N, Thomssen C. A new look at node-negative breast cancer. *Oncologist.* 2011;(Suppl 1):51-60.
226. Cristofanilli M, Hayes DF, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Reuben JM, et al. Circulating tumor cells: a novel prognostic factor for newly diagnosed metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2005;23:1420-30.
227. 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.
228. Andreopoulou E, Cristofanilli M. Circulating tumor cells as prognostic marker in metastatic breast cancer. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2010;10:171-7.
229. Krishnamurthy S, Cristofanilli M, Singh B, Reuben J, Gao H, Cohen EN, et al. Detection of minimal residual disease in blood and bone marrow in early stage breast cancer. *Cancer.* 2010;116:3330-7.

230. Lang JE, Hall CS, Singh B, Lucci A. Significance of micrometastasis in bone marrow and blood of operable breast cancer patients: research tool or clinical application? *Expert Rev Anticancer Ther.* 2007;7:1463-72.
231. Gebauer G, Fehm T, Merkle E, Beck EP, 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.
232. 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.
233. Landys K, Persson S, Kovarik J, Hultborn R, Holmberg E. Prognostic value of bone marrow biopsy in operable breast cancer patients at the time of initial diagnosis: Results of a 20-year median follow-up. *Breast Cancer Res Treat.* 1998;49:27-33.
234. Wiedswang G, Borgen E, Karesen R, Kvalheim G, Nesland JM, Qvist 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.
235. Fehm T, Muller V, Alix-Panabieres C, Pantel K. Micrometastatic spread in breast cancer: detection, molecular characterization and clinical relevance. *Breast Cancer Res.* 2008;(Suppl 1):S1.
236. Smith IE, Dowsett M. Aromatase inhibitors in breast cancer. *N Engl J Med.* 2003;348:2431-42.
237. Hudis CA. Trastuzumab--mechanism of action and use in clinical practice. *N Engl J Med.* 2007;357:39-51.
238. Maass H, Engel B, Trams G. Steroid hormone receptors in human breast cancer and the clinical significance. *J Steroid Biochem.* 1975;6:743-9.
239. Wittliff JL. Steroid-hormone receptors in breast cancer. *Cancer.* 1984;(Suppl 3):630-43.
240. McCarty KS, Jr., McCarty KS, Sr. Steroid hormone receptors in the regulation of differentiation. A review. *Am J Pathol.* 1977;86:705-44.
241. Cui X, Schiff R, Arpino G, Osborne CK, Lee AV. Biology of progesterone receptor loss in breast cancer and its implications for endocrine therapy. *J Clin Oncol.* 2005;23:7721-35.
242. Maynard PV, Davies CJ, Blamey RW, Elston CW, Johnson J, Griffiths K. Relationship between oestrogen-receptor content and histological grade in human primary breast tumours. *Br J Cancer.* 1978;38:745-8.

243. Allred DC, Harvey JM, Berardo M, Clark GM. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol.* 1998;11:155-68.
244. Schnitt SJ. Estrogen receptor testing of breast cancer in current clinical practice: what's the question? *J Clin Oncol.* 2006;24:1797-9.
245. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomised trials. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. *Lancet.* 1998;351:1451-67.
246. McGuire WL, Clark GM. Role of progesterone receptors in breast cancer. *CA Cancer J Clin.* 1986;36:302-9.
247. Arpino G, Weiss H, Lee AV, Schiff R, De Placido S, Osborne CK, et al. Estrogen receptor-positive, progesterone receptor-negative breast cancer: association with growth factor receptor expression and tamoxifen resistance. *J Natl Cancer Inst.* 2005;97:1254-61.
248. Howell A, Cuzick J, Baum M, Buzdar A, Dowsett M, Forbes JF, et al. Results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination) trial after completion of 5 years' adjuvant treatment for breast cancer. *Lancet.* 2005;365:60-2.
249. Dowsett M, Cuzick J, Wale C, Howell T, Houghton J, Baum M. Retrospective analysis of time to recurrence in the ATAC trial according to hormone receptor status: an hypothesis-generating study. *J Clin Oncol.* 2005;23:7512-7.
250. Reed W, Hannisdal E, Boehler PJ, Gundersen S, Host H, Marthin J. The prognostic value of p53 and c-erb B-2 immunostaining is overrated for patients with lymph node negative breast carcinoma: a multivariate analysis of prognostic factors in 613 patients with a follow-up of 14-30 years. *Cancer.* 2000;88:804-13.
251. Vincent-Salomon A, Carton M, Zafrani B, Freneaux P, Nicolas A, Massemin B, et al. Long term outcome of small size invasive breast carcinomas independent from angiogenesis in a series of 685 cases. *Cancer.* 2001;92:249-56.
252. Costa SD, Lange S, Klinga K, Merkle E, Kaufmann M. Factors influencing the prognostic role of oestrogen and progesterone receptor levels in breast cancer--results of the analysis of 670 patients with 11 years of follow-up. *Eur J Cancer.* 2002;38:1329-34.
253. Singh L, Wilson AJ, Baum M, Whimster WF, Birch IH, Jackson IM, et al. The relationship between histological grade, oestrogen receptor status, events and survival at 8 years in the NATO ('Nolvadex') trial. *Br J Cancer.* 1988;57:612-4.
254. Bonnier P, Romain S, Giacalone PL, Laffargue F, Martin PM, Piana L. Clinical and biologic prognostic factors in breast cancer diagnosed during postmenopausal hormone replacement therapy. *Obstet Gynecol.* 1995;85:11-7.

-
255. Saez RA, McGuire WL, Clark GM. Prognostic factors in breast cancer. *Semin Surg Oncol.* 1989;5:102-10.
256. Wenger CR, Beardslee S, Owens MA, Pounds G, Oldaker T, Vendely P, et al. DNA ploidy, S-phase, and steroid receptors in more than 127,000 breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 1993;28:9-20.
257. Chebil G, Bendahl PO, Ferno M. Estrogen and progesterone receptor assay in paraffin-embedded breast cancer--reproducibility of assessment. *Acta Oncol.* 2003;42:43-7.
258. Chebil G, Bendahl PO, Idvall I, Ferno M. Comparison of immunohistochemical and biochemical assay of steroid receptors in primary breast cancer--clinical associations and reasons for discrepancies. *Acta Oncol.* 2003;42:719-25.
259. Robbins P, Pinder S, de Klerk N, Dawkins H, Harvey J, Sterrett G, et al. Histological grading of breast carcinomas: a study of interobserver agreement. *Hum Pathol.* 1995;26:873-9.
260. Biesterfeld S, Veuskens U, Schmitz FJ, Amo-Takyi B, Bocking A. Interobserver reproducibility of immunocytochemical estrogen- and progesterone receptor status assessment in breast cancer. *Anticancer Res.* 1996;16:2497-500.
261. Biesterfeld S, Schroder W, Steinhagen G, Koch R, Veuskens U, Schmitz FJ, et al. Simultaneous immunohistochemical and biochemical hormone receptor assessment in breast cancer provides complementary prognostic information. *Anticancer Res.* 1997;17:4723-9.
262. Fisher ER, Anderson S, Dean S, Dabbs D, Fisher B, Siderits R, et al. Solving the dilemma of the immunohistochemical and other methods used for scoring estrogen receptor and progesterone receptor in patients with invasive breast carcinoma. *Cancer.* 2005;103:164-73.
263. Allred DC, Carlson RW, Berry DA, Burstein HJ, Edge SB, Goldstein LJ, et al. NCCN Task Force Report: Estrogen Receptor and Progesterone Receptor Testing in Breast Cancer by Immunohistochemistry. *J Natl Compr Canc Netw.* 2009;(Suppl 6):S1-S21.
264. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, et al. American Society of Clinical Oncology/College Of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol.* 2010;28:2784-95.
265. Rastelli F, Crispino S. Factors predictive of response to hormone therapy in breast cancer. *Tumori.* 2008;94:370-83.
266. Parise CA, Bauer KR, Brown MM, Caggiano V. Breast cancer subtypes as defined by the estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), and the human epidermal growth factor

receptor 2 (HER2) among women with invasive breast cancer in California, 1999-2004. *Breast J*. 2009;15:593-602.

267. Ponzone R, Montemurro F, Maggiorotto F, Robba C, Gregori D, Jacomuzzi ME, et al. Clinical outcome of adjuvant endocrine treatment according to PR and HER-2 status in early breast cancer. *Ann Oncol*. 2006;17:1631-6.

268. Osborne CK, Shou J, Massarweh S, Schiff R. Crosstalk between estrogen receptor and growth factor receptor pathways as a cause for endocrine therapy resistance in breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2005;11:865s-70s.

269. Konecny G, Pauletti G, Pegram M, Untch M, Dandekar S, Aguilar Z, et al. Quantitative association between HER-2/neu and steroid hormone receptors in hormone receptor-positive primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2003;95:142-53.

270. Shou J, Massarweh S, Osborne CK, Wakeling AE, Ali S, Weiss H, et al. Mechanisms of tamoxifen resistance: increased estrogen receptor-HER2/neu cross-talk in ER/HER2-positive breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2004;96:926-35.

271. Massarweh S, Schiff R. Resistance to endocrine therapy in breast cancer: exploiting estrogen receptor/growth factor signaling crosstalk. *Endocr Relat Cancer*. 2006;(Suppl 1):S15-24.

272. Jansen MP, Foekens JA, van Staveren IL, Dirkwager-Kiel MM, Ritstier K, Look MP, et al. Molecular classification of tamoxifen-resistant breast carcinomas by gene expression profiling. *J Clin Oncol*. 2005;23:732-40.

273. Ciocca DR, Gago FE, Fanelli MA, Calderwood SK. Co-expression of steroid receptors (estrogen receptor alpha and/or progesterone receptors) and Her-2/neu: Clinical implications. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2006;102:32-40.

274. Gago FE, Fanelli MA, Ciocca DR. Co-expression of steroid hormone receptors (estrogen receptor alpha and/or progesterone receptors) and Her2/neu (c-erbB-2) in breast cancer: clinical outcome following tamoxifen-based adjuvant therapy. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2006;98:36-40.

275. Lipton A, Ali SM, Leitzel K, Demers L, Chinchilli V, Engle L, et al. Elevated serum Her-2/neu level predicts decreased response to hormone therapy in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*. 2002;20:1467-72.

276. Lipton A, Ali SM, Leitzel K, Demers L, Harvey HA, Chaudri-Ross HA, et al. Serum HER-2/neu and response to the aromatase inhibitor letrozole versus tamoxifen. *J Clin Oncol*. 2003;21:1967-72.

277. Ellis MJ, Tao Y, Young O, White S, Proia AD, Murray J, et al. Estrogen-independent proliferation is present in estrogen-receptor HER2-positive primary breast cancer after neoadjuvant letrozole. *J Clin Oncol*. 2006;24:3019-25.
278. Kaufman B, Mackey JR, Clemens MR, Bapsy PP, Vaid A, Wardley A, et al. Trastuzumab plus anastrozole versus anastrozole alone for the treatment of postmenopausal women with human epidermal growth factor receptor 2-positive, hormone receptor-positive metastatic breast cancer: results from the randomized phase III TAnDEM study. *J Clin Oncol*. 2009;27:5529-37.
279. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*. 1987;235:177-82.
280. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science*. 1989;244:707-12.
281. Menard S, Balsari A, Casalini P, Tagliabue E, Campiglio M, Bufalino R, et al. HER-2-positive breast carcinomas as a particular subset with peculiar clinical behaviors. *Clin Cancer Res*. 2002;8:520-5.
282. Ferrero-Pous M, Hacene K, Bouchet C, Le Doussal V, Tubiana-Hulin M, Spyrtos F. Relationship between c-erbB-2 and other tumor characteristics in breast cancer prognosis. *Clin Cancer Res*. 2000;6:4745-54.
283. Haerslev T, Jacobsen GK. An immunohistochemical study of p53 with correlations to histopathological parameters, c-erbB-2, proliferating cell nuclear antigen, and prognosis. *Hum Pathol*. 1995;26:295-301.
284. Masood S, Bui MM. Prognostic and predictive value of HER2/neu oncogene in breast cancer. *Microsc Res Tech*. 2002;59:102-8.
285. Ross JS, Slodkowska EA, Symmans WF, Pusztai L, Ravdin PM, Hortobagyi GN. The HER-2 receptor and breast cancer: ten years of targeted anti-HER-2 therapy and personalized medicine. *Oncologist*. 2009;14:320-68.
286. van de Vijver M, Bilous M, Hanna W, Hofmann M, Kristel P, Penault-Llorca F, et al. Chromogenic in situ hybridisation for the assessment of HER2 status in breast cancer: an international validation ring study. *Breast Cancer Res*. 2007;9:R68.
287. Shah S, Chen B. Testing for HER2 in Breast Cancer: A Continuing Evolution. *Patholog Res Int*. 2011;2011:903202.

288. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol.* 2007;25:118-45.
289. Albanell J, Andreu X, Calasanz MJ, Concha A, Corominas JM, Garcia-Caballero T, et al. Guidelines for HER2 testing in breast cancer: a national consensus of the Spanish Society of Pathology (SEAP) and the Spanish Society of Medical Oncology (SEOM). *Clin Transl Oncol.* 2009;11:363-75.
290. Muller V, Witzel I, Luck HJ, Kohler G, von Minckwitz G, Mobus V, et al. Prognostic and predictive impact of the HER-2/ neu extracellular domain (ECD) in the serum of patients treated with chemotherapy for metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2004;86:9-18.
291. Esteva FJ, Cheli CD, Fritsche H, Fornier M, Slamon D, Thiel RP, et al. Clinical utility of serum HER2/neu in monitoring and prediction of progression-free survival in metastatic breast cancer patients treated with trastuzumab-based therapies. *Breast Cancer Res.* 2005;7:R436-43.
292. Ali SM, Carney WP, Esteva FJ, Fornier M, Harris L, Kostler WJ, et al. Serum HER-2/neu and relative resistance to trastuzumab-based therapy in patients with metastatic breast cancer. *Cancer.* 2008;113:1294-301.
293. Lennon S, Barton C, Banken L, Gianni L, Marty M, Baselga J, et al. Utility of serum HER2 extracellular domain assessment in clinical decision making: pooled analysis of four trials of trastuzumab in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2009;27:1685-93.
294. Pritchard KI, Shepherd LE, O'Malley FP, Andrulis IL, Tu D, Bramwell VH, et al. HER2 and responsiveness of breast cancer to adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med.* 2006;354:2103-11.
295. Press MF, Bernstein L, Thomas PA, Meisner LF, Zhou JY, Ma Y, et al. HER-2/neu gene amplification characterized by fluorescence in situ hybridization: poor prognosis in node-negative breast carcinomas. *J Clin Oncol.* 1997;15:2894-904.
296. Ross JS, Fletcher JA, Linette GP, Stec J, Clark E, Ayers M, et al. The Her-2/neu gene and protein in breast cancer 2003: biomarker and target of therapy. *Oncologist.* 2003;8:307-25.
297. Ross JS, Fletcher JA, Bloom KJ, Linette GP, Stec J, Symmans WF, et al. Targeted therapy in breast cancer: the HER-2/neu gene and protein. *Mol Cell Proteomics.* 2004;3:379-98.
298. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, Goldhirsch A, Untch M, Smith I, et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med.* 2005;353:1659-72.

-
299. Romond EH, Perez EA, Bryant J, Suman VJ, Geyer CE, Jr., Davidson NE, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med.* 2005;353:1673-84.
300. Joensuu H, Kellokumpu-Lehtinen PL, Bono P, Alanko T, Kataja V, Asola R, et al. Adjuvant docetaxel or vinorelbine with or without trastuzumab for breast cancer. *N Engl J Med.* 2006;354:809-20.
301. Paik S, Kim C, Wolmark N. HER2 status and benefit from adjuvant trastuzumab in breast cancer. *N Engl J Med.* 2008;358:1409-11.
302. Geyer CE, Forster J, Lindquist D, Chan S, Romieu CG, Pienkowski T, et al. Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med.* 2006;355:2733-43.
303. Pegram MD, Pauletti G, Slamon DJ. HER-2/neu as a predictive marker of response to breast cancer therapy. *Breast Cancer Res Treat.* 1998;52:65-77.
304. Piccart-Gebhart MJ. Anthracyclines and the tailoring of treatment for early breast cancer. *N Engl J Med.* 2006;354:2177-9.
305. Gennari A, Sormani MP, Pronzato P, Puntoni M, Colozza M, Pfeffer U, et al. HER2 status and efficacy of adjuvant anthracyclines in early breast cancer: a pooled analysis of randomized trials. *J Natl Cancer Inst.* 2008;100:14-20.
306. Pietras RJ, Arboleda J, Reese DM, Wongvipat N, Pegram MD, Ramos L, et al. HER-2 tyrosine kinase pathway targets estrogen receptor and promotes hormone-independent growth in human breast cancer cells. *Oncogene.* 1995;10:2435-46.
307. Houston SJ, Plunkett TA, Barnes DM, Smith P, Rubens RD, Miles DW. Overexpression of c-erbB2 is an independent marker of resistance to endocrine therapy in advanced breast cancer. *Br J Cancer.* 1999;79:1220-6.
308. Jarvinen TA, Liu ET. HER-2/neu and topoisomerase IIalpha in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2003;78:299-311.
309. Larsimont D, Durbecq V, Awada A, Di Leo A. [HER2 and topoisomerase II alpha: useful clinical markers in breast cancer]. *Bull Cancer.* 2008;95:344-51.
310. Arriola E, Rodriguez-Pinilla SM, Lambros MB, Jones RL, James M, Savage K, et al. Topoisomerase II alpha amplification may predict benefit from adjuvant anthracyclines in HER2 positive early breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2007;106:181-9.
311. Ross JS, Fletcher JA. The HER-2/neu oncogene in breast cancer: prognostic factor, predictive factor, and target for therapy. *Stem Cells.* 1998;16:413-28.

312. Ferretti G, Felici A, Papaldo P, Fabi A, Cognetti F. HER2/neu role in breast cancer: from a prognostic foe to a predictive friend. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2007;19:56-62.
313. Flores YN, Bishai DM, Lorincz A, Shah KV, Lazcano-Ponce E, Hernandez M, et al. HPV testing for cervical cancer screening appears more cost-effective than Papanicolaou cytology in Mexico. *Cancer Causes Control*. 2011;22:261-72.
314. Kuukasjarvi T, Karhu R, Tanner M, Kahkonen M, Schaffer A, Nupponen N, et al. Genetic heterogeneity and clonal evolution underlying development of asynchronous metastasis in human breast cancer. *Cancer Res*. 1997;57:1597-604.
315. Cardoso F, Di Leo A, Larsimont D, Gancberg D, Rouas G, Dolci S, et al. Evaluation of HER2, p53, bcl-2, topoisomerase II-alpha, heat shock proteins 27 and 70 in primary breast cancer and metastatic ipsilateral axillary lymph nodes. *Ann Oncol*. 2001;12:615-20.
316. Guarneri V, Giovannelli S, Ficarra G, Bettelli S, Maiorana A, Piacentini F, et al. Comparison of HER-2 and hormone receptor expression in primary breast cancers and asynchronous paired metastases: impact on patient management. *Oncologist*. 2008;13:838-44.
317. Santinelli A, Pisa E, Stramazotti D, Fabris G. HER-2 status discrepancy between primary breast cancer and metastatic sites. Impact on target therapy. *Int J Cancer*. 2008;122:999-1004.
318. Lower EE, Glass E, Blau R, Harman S. HER-2/neu expression in primary and metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2009;113:301-6.
319. Idirisinghe PK, Thike AA, Cheok PY, Tse GM, Lui PC, Fook-Chong S, et al. Hormone receptor and c-ERBB2 status in distant metastatic and locally recurrent breast cancer. Pathologic correlations and clinical significance. *Am J Clin Pathol*. 2010;133:416-29.
320. Parker JS, Mullins M, Cheang MC, Leung S, Voduc D, Vickery T, et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *J Clin Oncol*. 2009;27:1160-7.
321. Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, Ibrahim N, Cristofanilli M, Anderson K, et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res*. 2005;11:5678-85.
322. Hess KR, Anderson K, Symmans WF, Valero V, Ibrahim N, Mejia JA, et al. Pharmacogenomic predictor of sensitivity to preoperative chemotherapy with paclitaxel and fluorouracil, doxorubicin, and cyclophosphamide in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2006;24:4236-44.

323. Albain KS, Paik S, van't Veer L. Prediction of adjuvant chemotherapy benefit in endocrine responsive, early breast cancer using multigene assays. *Breast*. 2009;(Suppl 3):S141-5.
324. Albain KS, Barlow WE, Shak S, Hortobagyi GN, Livingston RB, Yeh IT, et al. 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;11:55-65.
325. Paik S, Tang G, Shak S, Kim C, Baker J, Kim W, et al. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol*. 2006;24:3726-34.
326. Weigelt B, Glas AM, Wessels LF, Witteveen AT, Peterse JL, van't Veer LJ. Gene expression profiles of primary breast tumors maintained in distant metastases. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100:15901-5.
327. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2004;10:5367-74.
328. Abd El-Rehim DM, Ball G, Pinder SE, Rakha E, Paish C, Robertson JF, et al. High-throughput protein expression analysis using tissue microarray technology of a large well-characterised series identifies biologically distinct classes of breast cancer confirming recent cDNA expression analyses. *Int J Cancer*. 2005;116:340-50.
329. Livasy CA, Karaca G, Nanda R, Tretiakova MS, Olopade OI, Moore DT, et al. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol*. 2006;19:264-71.
330. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA*. 2006;295:2492-502.
331. Kim MJ, Ro JY, Ahn SH, Kim HH, Kim SB, Gong G. Clinicopathologic significance of the basal-like subtype of breast cancer: a comparison with hormone receptor and Her2/neu-overexpressing phenotypes. *Hum Pathol*. 2006;37:1217-26.
332. Carey LA, Dees EC, Sawyer L, Gatti L, Moore DT, Collichio F, et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res*. 2007;13:2329-34.
333. Bertolo C, Guerrero D, Vicente F, Cordoba A, Esteller M, Ropero S, et al. Differences and molecular immunohistochemical parameters in the subtypes of infiltrating ductal breast cancer. *Am J Clin Pathol*. 2008;130:414-24.

334. Kaplan HG, Malmgren JA, Atwood M. T1N0 triple negative breast cancer: risk of recurrence and adjuvant chemotherapy. *Breast J.* 2009;15:454-60.
335. Lee JA, Kim KI, Bae JW, Jung YH, An H, Lee ES. Triple negative breast cancer in Korea-distinct biology with different impact of prognostic factors on survival. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;123:177-87.
336. Millar EK, Graham PH, O'Toole SA, McNeil CM, Browne L, Morey AL, et al. Prediction of local recurrence, distant metastases, and death after breast-conserving therapy in early-stage invasive breast cancer using a five-biomarker panel. *J Clin Oncol.* 2009;27:4701-8.
337. Voduc KD, Cheang MC, Tyldesley S, Gelmon K, Nielsen TO, Kennecke H. Breast cancer subtypes and the risk of local and regional relapse. *J Clin Oncol.* 2010;28:1684-91.
338. Blows FM, Driver KE, Schmidt MK, Broeks A, van Leeuwen FE, Wesseling J, et al. Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: a collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies. *PLoS Med.* 2010;7:e1000279.
339. Kennecke H, Yerushalmi R, Woods R, Cheang MC, Voduc D, Speers CH, et al. Metastatic behavior of breast cancer subtypes. *J Clin Oncol.* 2010;28:3271-7.
340. Del Casar JM, Martin A, Garcia C, Corte MD, Alvarez A, Junquera S, et al. Characterization of breast cancer subtypes by quantitative assessment of biological parameters: relationship with clinicopathological characteristics, biological features and prognosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008;141:147-52.
341. Dawson SJ, Provenzano E, Caldas C. Triple negative breast cancers: clinical and prognostic implications. *Eur J Cancer.* 2009;(Suppl 1):27-40.
342. Dent R, Hanna WM, Trudeau M, Rawlinson E, Sun P, Narod SA. Pattern of metastatic spread in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2009;115:423-8.
343. Cheang MC, Voduc D, Bajdik C, Leung S, McKinney S, Chia SK, et al. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. *Clin Cancer Res.* 2008;14:1368-76.
344. Hudis CA, Gianni L. Triple-negative breast cancer: an unmet medical need. *Oncologist.* 2011;(Suppl 1):1-11.
345. Millikan RC, Newman B, Tse CK, Moorman PG, Conway K, Dressler LG, et al. Epidemiology of basal-like breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2008;109:123-39.
346. Fan C, Oh DS, Wessels L, Weigelt B, Nuyten DS, Nobel AB, et al. Concordance among gene-expression-based predictors for breast cancer. *N Engl J Med.* 2006;355:560-9.

347. Bertucci F, Borie N, Ginestier C, Groulet A, Charafe-Jauffret E, Adelaide J, et al. Identification and validation of an ERBB2 gene expression signature in breast cancers. *Oncogene*. 2004;23:2564-75.
348. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med*. 2001;344:783-92.
349. Berns K, Horlings HM, Hennessy BT, Madiredjo M, Hijmans EM, Beelen K, et al. A functional genetic approach identifies the PI3K pathway as a major determinant of trastuzumab resistance in breast cancer. *Cancer Cell*. 2007;12:395-402.
350. Eichhorn PJ, Gili M, Scaltriti M, Serra V, Guzman M, Nijkamp W, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase hyperactivation results in lapatinib resistance that is reversed by the mTOR/phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor NVP-BEZ235. *Cancer Res*. 2008;68:9221-30.
351. Nagata Y, Lan KH, Zhou X, Tan M, Esteva FJ, Sahin AA, et al. PTEN activation contributes to tumor inhibition by trastuzumab, and loss of PTEN predicts trastuzumab resistance in patients. *Cancer Cell*. 2004;6:117-27.
352. Scaltriti M, Rojo F, Ocana A, Anido J, Guzman M, Cortes J, et al. Expression of p95HER2, a truncated form of the HER2 receptor, and response to anti-HER2 therapies in breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2007;99:628-38.
353. Bhargava R, Beriwal S, Dabbs DJ, Ozbek U, Soran A, Johnson RR, et al. Immunohistochemical surrogate markers of breast cancer molecular classes predicts response to neoadjuvant chemotherapy: a single institutional experience with 359 cases. *Cancer*. 2010;116:1431-9.
354. Dawood S, Broglio K, Esteva FJ, Ibrahim NK, Kau SW, Islam R, et al. Defining prognosis for women with breast cancer and CNS metastases by HER2 status. *Ann Oncol*. 2008;19:1242-8.
355. Pestalozzi BC. Brain metastases and subtypes of breast cancer. *Ann Oncol*. 2009;20:803-5.
356. Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer. *N Engl J Med*. 2010;363:1938-48.
357. Bosch A, Eroles P, Zaragoza R, Vina JR, Lluch A. Triple-negative breast cancer: molecular features, pathogenesis, treatment and current lines of research. *Cancer Treat Rev*. 2010;36:206-15.

358. Tischkowitz M, Brunet JS, Begin LR, Huntsman DG, Cheang MC, Akslen LA, et al. Use of immunohistochemical markers can refine prognosis in triple negative breast cancer. *BMC Cancer*. 2007;7:134.
359. Yamamoto Y, Ibusuki M, Nakano M, Kawasoe T, Hiki R, Iwase H. Clinical significance of basal-like subtype in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer*. 2009;16:260-7.
360. Bertucci F, Finetti P, Cervera N, Esterni B, Hermitte F, Viens P, et al. How basal are triple-negative breast cancers? *Int J Cancer*. 2008;123:236-40.
361. Perou CM. Molecular stratification of triple-negative breast cancers. *Oncologist*. 2011;(Suppl 1):61-70.
362. Rakha EA, Reis-Filho JS, Ellis IO. Basal-like breast cancer: a critical review. *J Clin Oncol*. 2008;26:2568-81.
363. Turner NC, Reis-Filho JS. Basal-like breast cancer and the BRCA1 phenotype. *Oncogene*. 2006;25:5846-53.
364. Fong PC, Boss DS, Yap TA, Tutt A, Wu P, Mergui-Roelvink M, et al. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase in tumors from BRCA mutation carriers. *N Engl J Med*. 2009;361:123-34.
365. Tutt A, Robson M, Garber JE, Domchek SM, Audeh MW, Weitzel JN, et al. Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and advanced breast cancer: a proof-of-concept trial. *Lancet*. 2010;376:235-44.
366. Turner NC, Reis-Filho JS, Russell AM, Springall RJ, Ryder K, Steele D, et al. BRCA1 dysfunction in sporadic basal-like breast cancer. *Oncogene*. 2007;26:2126-32.
367. Collett K, Stefansson IM, Eide J, Braaten A, Wang H, Eide GE, et al. A basal epithelial phenotype is more frequent in interval breast cancers compared with screen detected tumors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14:1108-12.
368. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, Andre F, Tordai A, Mejia JA, et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol*. 2008;26:1275-81.
369. Esteller M, Silva JM, Dominguez G, Bonilla F, Matias-Guiu X, Lerma E, et al. Promoter hypermethylation and BRCA1 inactivation in sporadic breast and ovarian tumors. *J Natl Cancer Inst*. 2000;92:564-9.
370. Vincent-Salomon A, Gruel N, Lucchesi C, MacGrogan G, Dendale R, Sigal-Zafrani B, et al. Identification of typical medullary breast carcinoma as a genomic sub-group of basal-like carcinomas, a heterogeneous new molecular entity. *Breast Cancer Res*. 2007;9:R24.

371. Haffty BG, Yang Q, Reiss M, Kearney T, Higgins SA, Weidhaas J, et al. Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed triple negative early-stage breast cancer. *J Clin Oncol*. 2006;24:5652-7.
372. Rodriguez-Pinilla SM, Sarrio D, Honrado E, Hardisson D, Calero F, Benitez J, et al. Prognostic significance of basal-like phenotype and fascin expression in node-negative invasive breast carcinomas. *Clin Cancer Res*. 2006;12:1533-9.
373. de Ronde JJ, Hannemann J, Halfwerk H, Mulder L, Straver ME, Vrancken Peeters MJ, et al. Concordance of clinical and molecular breast cancer subtyping in the context of preoperative chemotherapy response. *Breast Cancer Res Treat*. 2010;119:119-26.
374. O'Shaughnessy J, Osborne C, Pippen JE, Yoffe M, Patt D, Rocha C, et al. Iniparib plus chemotherapy in metastatic triple-negative breast cancer. *N Engl J Med*. 2011;364:205-14.
375. Buyse M, Loi S, van't Veer L, Viale G, Delorenzi M, Glas AM, et al. Validation and clinical utility of a 70-gene prognostic signature for women with node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2006;98:1183-92.
376. Wang Y, Klijn JG, Zhang Y, Sieuwerts AM, Look MP, Yang F, et al. Gene-expression profiles to predict distant metastasis of lymph-node-negative primary breast cancer. *Lancet*. 2005;365:671-9.
377. Chang HY, Nuyten DS, Sneddon JB, Hastie T, Tibshirani R, Sorlie T, et al. Robustness, scalability, and integration of a wound-response gene expression signature in predicting breast cancer survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102:3738-43.
378. Sotiriou C, Wirapati P, Loi S, Harris A, Fox S, Smeds J, et al. Gene expression profiling in breast cancer: understanding the molecular basis of histologic grade to improve prognosis. *J Natl Cancer Inst*. 2006;98:262-72.
379. Paik S, Tang G, Fumagalli D. An ideal prognostic test for estrogen receptor-positive breast cancer? *J Clin Oncol*. 2008;26:4058-9.
380. Goldstein LJ, Gray R, Badve S, Childs BH, Yoshizawa C, Rowley 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;26:4063-71.
381. Dowsett M, Cuzick J, Wale C, Forbes J, Mallon EA, Salter J, 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;28:1829-34.

382. Ma XJ, Wang Z, Ryan PD, Isakoff SJ, Barmettler A, Fuller A, et al. A two-gene expression ratio predicts clinical outcome in breast cancer patients treated with tamoxifen. *Cancer Cell*. 2004;5:607-16.
383. Miller LD, Smeds J, George J, Vega VB, Vergara L, Ploner A, et al. An expression signature for p53 status in human breast cancer predicts mutation status, transcriptional effects, and patient survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102:13550-5.
384. Farmer P, Bonnefoi H, Anderle P, Cameron D, Wirapati P, Becette V, et al. A stroma-related gene signature predicts resistance to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Nat Med*. 2009;15:68-74.
385. Desmedt C, Haibe-Kains B, Wirapati P, Buyse M, Larsimont D, Bontempi G, et al. Biological processes associated with breast cancer clinical outcome depend on the molecular subtypes. *Clin Cancer Res*. 2008;14:5158-65.
386. Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA, Caldas C. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application? *J Clin Oncol*. 2005;23:7350-60.

9. ANEXOS

9.1. DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE GALICIA



XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DE SANIDADE
Secretaría Xeral

Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia
Edificio Administrativo de San Lázaro
15781 SANTIAGO DE COMPOSTELA
Tlf: 881 546425 Fax: 881 541804
ceic@sergas.es

DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE GALICIA

Dña. Paula M. López Vázquez, Secretaria suplente del Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia

CERTIFICA:

Que este Comité evaluó en su reunión del día 28/10/2010 el estudio:

Título: Correlación de factores pronósticos clásicos (Tamaño Tumoral, Afectación Ganglionar, Edad, Grado y Tipo histológico, y estado menopáusico) con parámetros inmunohistoquímicos (RE/RP, HER-2-Neu, P53, Ki- 67, Bcl-2, CK 5 y 6, EGFR/ HER-1-Neu) y subtipos tumorales en mujeres afectadas por cáncer de mama

Promotor: María Eva Pérez López

Código de Registro CEIC de Galicia: 2010/427

Y que este Comité aceptó, de conformidad con sus Procedimientos Normalizados de Trabajo, que dicho estudio fuera realizado en los siguientes centros:

Centros	Investigadores principales
C.H. de Ourense	María Eva Pérez López

Lo que certifico a petición del equipo investigador.

En Santiago de Compostela a 05 de noviembre de 2010
La Secretaria suplente

Paula M. López Vázquez



9.2. INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. FUENTE: ADJUVANT! ONLINE (WWW.ADJUVANTONLINE.COM)	4
FIGURA 2. EL TUMOR MÁS MORTAL EN MUJERES CONTINÚA SIENDO EL DE MAMA SEGUIDO DEL COLORRECTAL.....	7
FIGURA 3. FUENTE SEOM (SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ONCOLOGÍA MÉDICA) (WWW.SEOM.ORG)	7
FIGURA 4. TASA AJUSTADA DE MORTALIDAD POR CM POR COMUNIDAD AUTÓNOMA	9
FIGURA 5. RELACIÓN DEL RECEPTOR ESTROGÉNICO CON VÍAS DE SEÑALIZACIÓN CELULAR.....	60
FIGURA 6. SUBTIPOS TUMORALES DEFINIDOS POR SORLIE Y PEROU Y COMPARACIÓN CON LA PLATAFORMA GÉNICA DE VAN'T VEER.....	70
FIGURA 7. RELACIÓN ENTRE LOS PERFILES DE EXPRESIÓN GÉNICA, LA CLASIFICACIÓN TUMORAL Y EL PRONÓSTICO	89
FIGURA 8. DISTRUBUCIÓN DE LA MUESTRA POR EDADES	108
FIGURA 9. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA POR LATERALIDAD.....	109
FIGURA 10. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA POR EXTENSIÓN DEL TUMOR PREVIA AL TRATAMIENTO.	111
FIGURA 11. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA POR TAMAÑO TUMORAL	113
FIGURA 12. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA SEGÚN EL GRADO DE DIFERENCIACIÓN DEL TUMOR.....	115
FIGURA 13. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA SEGÚN LA EXPRESIÓN DE RECEPTORES HORMONALES Y HER-2.	115
FIGURA 14. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA SEGÚN SUBTIPOS TUMORALES	119
FIGURA 15. ESTADO DE LAS PACIENTES EN EL MOMENTO DEL ANÁLISIS.....	129
FIGURA 16. SUPERVIVENCIA GLOBAL DE NUESTRA COHORTE DE PACIENTES CON CM.....	130
FIGURA 17. SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CM.....	131
FIGURA 18. ESTADO DE LA ENFERMEDAD EN LAS PACIENTES EN EL MOMENTO DEL ANÁLISIS.....	132
FIGURA 19. SUPERVIVENCIA LIBRE DE RECAÍDA DE CM	133
FIGURA 20. LUGAR DE REACÍDA DE LAS PACIENTES EN EL MOMENTO DEL ANÁLISIS	134
FIGURA 21. DIAGRAMA DE CAJAS RELACIONANDO EDAD (MEDIANAS DE EDAD) Y SUBTIPOS TUMORALES.....	136
FIGURA 22. DISTRIBUCIÓN DEL USO DE QUIMIOTERAPIA SEGÚN SUBTIPOS TUMORALES	149
FIGURA 23. DISTRIBUCIÓN DEL TIPO QUIMIOTERAPIA USADO SEGÚN SUBTIPOS TUMORALES	150
FIGURA 24. GRÁFICA DE SUPERVIVENCIA EN LUMINAL B NO SEGÚN KI-67	160
FIGURA 25. GRÁFICA DE SUPERVIVENCIA EN TRIPLE NEGATIVO SEGÚN BASAL-LIKE/NO	165
FIGURA 26. GRÁFICA DE SUPERVIVENCIA EN TRIPLE NEGATIVO-NO SEGÚN BASAL-LIKE/NO.....	168
FIGURA 27. GRÁFICA DE SUPERVIVENCIA EN TRIPLE NEGATIVO-N1-2 SEGÚN BASAL-LIKE/NO	171
FIGURA 28. GRÁFICA DE SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CÁNCER DE MAMA SEGÚN LA EDAD ..	173
FIGURA 29. GRÁFICA DE SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CÁNCER DE MAMA SEGÚN TAMAÑO TUMORAL	174
FIGURA 30. GRÁFICA DE SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CÁNCER DE MAMA SEGÚN AFECTACIÓN	175
FIGURA 31. GRÁFICA DE SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CÁNCER DE MAMA SEGÚN GRADO DE DIFERENCIACIÓN	177
FIGURA 32. GRÁFICA DE SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CÁNCER DE MAMA SEGÚN KI-67.....	178
FIGURA 33. GRÁFICA DE SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CÁNCER DE MAMA SEGÚN P53	179
FIGURA 34. GRÁFICA DE SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CM SEGÚN EXPRESIÓN HER-2- NEU/C-ERBB2.....	181
FIGURA 35. GRÁFICA DE SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CM SEGÚN R. DE ESTRÓGENO	182

FIGURA 36. GRÁFICA DE SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CM SEGÚN R. DE PROGESTERONA	183
FIGURA 37. GRÁFICA DE SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CM SEGÚN SUBTIPOS TUMORALES	192
FIGURA 38. GRÁFICA DE SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CM EN PACIENTES SIN AFECTACIÓN GANGLIONAR.....	193
FIGURA 39. GRÁFICA DE SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CM EN PACIENTES CON AFECTACIÓN GANGLIONAR.....	194

9.3. INDICE DE TABLAS

TABLA 1. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA POR HISTOLOGÍA TUMORAL.	112
TABLA 2. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA SEGÚN LA AFECTACIÓN GANGLIONAR AXILAR.	114
TABLA 3. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA SEGÚN LA EXPRESIÓN DE RE.....	116
TABLA 4. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA SEGÚN LA EXPRESIÓN DE RP.....	117
TABLA 5. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA SEGÚN LA EXPRESIÓN DE RECEPTORES DE HER-2.	118
TABLA 6. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA SEGÚN LOS NIVELES DE KI-67.....	119
TABLA 7. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA SEGÚN LA MUTACIÓN DE P53.....	119
TABLA 8. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA SEGÚN SUBTIPO TUMORAL TN U OTROS.....	121
TABLA 9. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA SEGÚN SUBTIPO BASAL-LIKE EN TN	122
TABLA 10. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA SEGÚN TIPO DE INTERV QUIRÚRGICA TUMORAL	123
TABLA 11. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA SEGÚN TIPO DE INTERV QUIRÚRGICA AXILAR	124
TABLA 12. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA SEGÚN RECEPCIÓN DE TRATAMIENTO RT.....	125
TABLA 13. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA SEGÚN RECEPCIÓN DE TRATAMIENTO QT	125
TABLA 14. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA SEGÚN EL ESQUEMA DE QT RECIBIDO	126
TABLA 15. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA SEGÚN INTENSIDAD DE DOSIS DE QT RECIBIDA.....	127
TABLA 16. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA SEGÚN EL TRATAMIENTO HORMONAL RECIBIDO.....	128
TABLA 17. ESTADO DE LAS PACIENTES EN EL MOMENTO DEL ANÁLISIS.....	129
TABLA 18. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA POR SUBTIPOS TUMORALES: EDAD Y LATERALIDAD... 135	
TABLA 19. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA POR SUBTIPOS TUMORALES: ESTADO AL DCO.....	137
TABLA 20. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA POR SUBTIPOS TUMORALES: HISTOLOGIA.....	138
TABLA 21. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA POR SUBTIPOS TUMORALES: ESTATUS, ESTADO AL CIERRE Y RECAÍDA.....	140
TABLA 22. DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA POR SUBTIPOS TUMORALES: LUGAR DE RECAIDA	141
TABLA 23. CORRELACIÓN DE F.P.Y SUBTIPOS: T, N Y GRADO DE DIFERENCIACIÓN	155
TABLA 24. CORRELACIÓN DE F.P.Y SUBTIPOS: P53, RE, RP Y HER2-NEU	156
TABLA 25. CORRELACIÓN DE F.P.Y SUBTIPOS: KI-67	146
TABLA 26. CORRELACIÓN DE TRATAMIENTO Y SUBTIPOS: CIRUGÍA, DISECCIÓN AXILAR Y RT	147
TABLA 27. CORRELACIÓN DE TRATAMIENTO Y SUBTIPOS: QT Y TIPO.....	148
TABLA 28. CORRELACIÓN DE TRATAMIENTO Y SUBTIPOS: INTENSIDAD DOSIS QT Y HORMONA... 151	
TABLA 29. DESCRIPTIVO DE RECAIDA POR SUBTIPOS SEGÚN A. GANGLIONAR	153
TABLA 30. DESCRIPTIVO DE MORTALIDAD POR SUBTIPOS SIN A. GANGLIONAR.....	154
TABLA 31. DESCRIPTIVO DE MORTALIDAD POR SUBTIPOS CON A. GANGLIONAR	155
TABLA 32. DESCRIPTIVO DE RECAÍDA EN LB SIN A. GANGLIONAR SEGÚN KI-67.....	156
TABLA 33. DESCRIPTIVO DE RECAIDA EN LB SIN A. GANGLIONAR SEGÚN HER2-NEU	157
TABLA 34. DESCRIPTIVO DE RECAÍDA EN LB SIN A. GANGLIONAR SEGÚN RP	158
TABLA 35. DESCRIPTIVO DE MORTALIDAD EN LB SIN A. GANGLIONAR SEGÚN KI-67.....	159
TABLA 36. DESCRIPTIVO DE MORTALIDAD EN LB SIN A. GANGLIONAR SEGÚN HER2-NEU	161
TABLA 37. DESCRIPTIVO DE MORTALIDAD EN LB SIN A. GANGLIONAR SEGÚN RP	162
TABLA 38. DESCRIPTIVO DE RECAÍDA EN TN SEGÚN BASAL-LIKE/NO.	163
TABLA 39. DESCRIPTIVO DE MORTALIDAD EN TN SEGÚN BASAL-LIKE/NO	164
TABLA 40. DESCRIPTIVO DE RECAÍDA EN TN SIN A. GANGLIONAR SEGÚN BASAL-LIKE/NO.....	166
TABLA 41. DESCRIPTIVO DE MORTALIDAD EN TN SIN A. GANGLIONAR SEGÚN BL/NO.....	167
TABLA 42. DESCRIPTIVO DE RECAÍDA EN TN CON A. GANGLIONAR SEGÚN BL/NO.....	169
TABLA 43. DESCRIPTIVO DE MORTALIDAD EN TN CON A. GANGLIONAR SEGÚN BL/NO.....	170

TABLA 44. SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CM-ANÁLISIS UNIVARIANTE DE F.P. CLÁSICOS: EDAD, T Y N.....	176
TABLA 45. SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CM-ANÁLISIS UNIVARIANTE DE F.P. CLÁSICOS: GRADO DE DIFERENCIACIÓN, KI-67 Y P53.....	180
TABLA 46. SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CM-ANÁLISIS UNIVARIANTE DE F.P. CLÁSICOS: RE, RP Y HER2NEU	184
TABLA 47. SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CM-ANÁLISIS MULTIVARIANTE DE F.P. CLÁSICOS: EDAD, T, N Y GRADO DE DIFERENCIACIÓN.....	185
TABLA 48. SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CM-ANÁLISIS MULTIVARIANTE DE F.P. CLÁSICOS: KI-67, P53, RE, RP Y HER2-NEU.....	187
TABLA 49. SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CM Y SUBTIPOS TUMORALES.....	188
TABLA50. SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CM Y SUBTIPO SEGÚN A. GANGLIONAR	189
TABLA 51. MODELO PRONÓSTICO DE SUPERVIVENCIA ESPECÍFICA POR CM.....	191