



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

UAB
Universitat Autònoma de Barcelona

Facultat de Medicina
Departament de Medicina

ESTUDI DE L'INFILTRAT LIMFOCITARI TUMORAL I EL RECEPTOR ANDROGÈNIC COM A FACTORS PREDICTIUS I PRONÒSTICS EN EL
CÀNCER DE MAMA LOCALMENT AVANÇAT TRACTAT AMB QUIMIOTERÀPIA NEOADJUVANT A L'ÀREA DEL MARESME (2002 - 2015)

MONTSE VELASCO CAPELLAS

**ESTUDI DE L'INFILTRAT
LIMFOCITARI TUMORAL I EL
RECEPTOR ANDROGÈNIC
COM A FACTORS PREDICTIUS I
PRONÒSTICS EN EL CÀNCER DE
MAMA LOCALMENT AVANÇAT
TRACTAT AMB QUIMIOTERÀPIA
NEOADJUVANT A L'ÀREA DEL
MARESME (2002 - 2015)**

Tesi doctoral

Montse Velasco Capellas

2022

**ESTUDI DE L'INFILTRAT LIMFOCITARI
TUMORAL I EL RECEPTOR ANDROGÈNIC
COM A FACTORS PREDICTIUS I
PRONÒSTICS EN EL CÀNCER DE MAMA
LOCALMENT AVANÇAT TRACTAT AMB
QUIMIOTERÀPIA NEOADJUVANT A L'ÀREA
DEL MARESME (2002 – 2015)**

Tesi doctoral presentada per:

Montse Velasco Capellas

per optar al grau de doctora

PROGRAMA DE DOCTORAT EN MEDICINA

DEPARTAMENT DE MEDICINA

Directores: Sonia del Barco Berron

Pilar Lianes Barragan

Tutor: Jordi Giralt López de Sagredo

Barcelona, 2022



Universitat Autònoma de Barcelona

Facultat de Medicina
Departament de Cirurgia

A la meva mare

Agraïments

A la meva mare, que m'ha ensenyat a créixer en els valors de l'amor, la generositat i la dedicació als altres i lluitar amb un somriure i ser agraïts fins al final.

Al meu pare, exemple de constància i treball i junt amb la meva mare sempre ha estat al meu costat acompanyant-me i estimant-me incondicionalment.

Al Josep, que junt amb els meus tres petits, la Júlia, en Pau i l'Eudald són el regal més preciós que m'ha donat la vida.

A la Dra. Sonia del Barco que m'ha dirigit la tesi amb rigurositat, docència i paciència durant tots aquests anys. Per mi és un model a seguir com a oncòloga pel seu gran coneixement, formació constant i rigurositat científica i alhora la seva sensibilitat i amor en la cura de les pacients.

A la Dra. Lianes, la meva cap de servei, agrair-li durant tots aquests anys, el seu ensenyament i amor cap a la feina i tot el seu recolzament en els moments més difícils que ho he necessitat.

Als meus companys de servei, la Montse, el Carlos R, la Laura, el Carlos G, la Candela, la Paula, el Paco, la Teresa i l'Ángeles amb els que comparteixo alegries i penes i m'ensenyen cada dia a ser millor metge i persona.

A la Dra. Olga Garcia i Dra. Paula Serret, exce l·lents patòlogues que m'han ajudat a l'anàlisi de les mostres i a les tècniques del servei d'Anatomia Patològica l'Estichu i la Sílvia agrair la seva aportació en l'anàlisi de les mostres.

A l'Eli Palomeras que amb la seva paciència i docència, m'ha ensenyat i ajudat a l'anàlisi de les dades de la meva mostra. Mil gràcies!

Al millor bibliotecari, l'Agustí Viladot, un gran professional que m'ha ajudat en l'exhaustiva recerca bibliogràfica.

A l'Associació Maresme Oncològic per la gran tasca amb els pacient i pel seu suport en la investigació en oncologia amb les seves donacions.

I finalment, a totes les pacients, moltes de les quals ja no hi són, que m'ensenyen i ajuden a créixer com a metge i persona amb el seu exemple i donen tot el sentit a la meva feina.

Montse Velasco Capellas

ABREVIATURES

A: adjuvant	CMTN: càncer de mama triple negatiu
AC: doxorubicina i ciclofosfamida	DM: <i>diabetes mellitus</i>
ACR: <i>American College of Radiology</i>	EBCTCG: <i>Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group</i>
ADC: <i>antibody- drug-conjugate</i>	EC: epirubicina i ciclofosfamida
ADN: àcid desoxiribonucleic	EGFR: <i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
AJCC: <i>American Joint Comitee on Cancer</i>	EM: estabilitat de la malaltia
ASCO: <i>American Society of Clinical Oncology</i>	FAC: ciclofosfamida, doxorubicina i fluorouracil
ASTRO: <i>American Society of Radiotherapy Oncology</i>	FDA: <i>Food and Drug Administration</i>
BAB: biòpsia assistida per buit	FISH: hibridació <i>in situ</i> per fluorescència
BAG: biòpsia amb agulla gruixuda	G-CSF: factor estimulant de colònies
BC: benefici clínic	GEICAM: Grup Espanyol de Càncer de Mama
BGS: biòpsia del gangli sentinella	GH: grau histològic
BIG-NABCG: <i>Breast International Group & North American Breast Cancer Group</i>	GS: gangli sentinella
BI-RADS: <i>Breast Imaging Reporting and Data System</i>	H-E: hematoxilina-eosina
BRCA: <i>BReast CAncer gene</i>	HIS: <i>hospital information system</i>
CAF: ciclofosfamida, doxorubicina i fluorouracil	HR: <i>hazard ratio</i>
CAM: complex areola-mugró	HT: hormonoteràpia
CAP: <i>College of American Pathologist</i>	IA: inhibidor de l'aromatasa
CC: cirurgia conservadora	IC: interval de confiança
CD: carcinoma ductal	IGF-1: <i>insulin-like growth factor 1</i>
CDDP: cisplatí	IGFR: <i>insulin-like growth factor receptor</i>
CDI: carcinoma ductal infiltrant	IHQ: immunohistoquímica
CDK4/6: citoqueratina 4/6 depenent de ciclina	ILV: invasió limfàtica-vascular
CEIC: comitè d'ètica d'investigació clínica	IMC: índex de massa corporal
CISH: hibridació <i>in situ</i> cromogènica	ISH: hibridació <i>in situ</i>
CLI: carcinoma lobel·lar infiltrant	ITC: <i>isolated tumoral cells</i>
CM: càncer de mama	iTILs: TILs intratumorals
CMF: ciclofosfamida, metotrexate i fluorouracil	LA: limfadenectomia
CMLA: càncer de mama localment avançat	LAR: <i>luminal androgen receptor</i>
CMPL: càncer de mama predominantment limfocitari	MiP: Miller i Payne

M1: metàstasi

MRM: mastectomia radical modificada

NA: neoadjuvant

NCCN: *National Comprehensive Cancer Network*

NF: neutropènia febril

NSABP: *National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project*

OMS: Organització Mundial de la Salut

OR: odds ratio

PAAF: punció- aspiració amb agulla fina

PBC: percentatge de benefici clínic

PD-1: mort programada

PD-L1: lligant de mort programada

PEPI: *Preoperative Endocrine Pronostic Index score*

QT: quimioteràpia

QTNA: quimioteràpia neoadjuvant

RA: receptor d'androgen

RCB: *Residual Cancer Burden*

RDBN: *Residual Disease in Breast and Nodes*

RC: resposta completa

RCC: resposta clínica completa

RE: receptor estrogen

RH: receptor hormonal

RMN: ressonància magnètica

RNL: ràtio neutròfil/ limfòcit

RP: resposta parcial

RPL: ràtio plaqueta/limfòcit

RPg: receptor de progesterona

RR: risc relatiu

RT: radioteràpia

SABCS: *San Antonio Breast Cancer Symposium*

SBR: *Scarff- Bloom- Richardson*

SC: superfície corporal

SG: supervivència global

SISH: hibridació *in situ* reforçada amb plata

SLM: supervivència lliure de malaltia

SLMD: supervivència lliure de malaltia a distància

SLR: supervivència lliure de recaiguda

SNC: sistema nerviós central

sTILs: TILs estromals

SSO: *Society Surgical Oncology*

PFN: percentatge de falsos negatius

TAC: docetaxel, doxorubicina i ciclofosfamida

T- DM1: ado-trastuzumab emtansina

TFN: taxa de falsos negatius

TFP: taxa de falsos positius

TILs: *tumor-infiltrating lymphocytes*

Treg: limfòcits T reguladors

INDEX DE TAULES

Taula 1.	Classificació BI-RADs	24
Taula 2.	Classificació IHQ. Creació de l'autora	31
Taula 3.	Estudis d'hormonoteràpia neoadjuvant	35
Taula 4.	PEPI score	36
Taula 5.	Meta- anàlisis en neoadjuvència	37
Taula 6.	Primers estudis en neoadjuvència	38
Taula 7.	Sistemes de classificació per avaluar la resposta a QTNA	38
Taula 8.	Estudis en neoadjuvència amb pertuzumab	41
Taula 9.	Estudis en neoadjuvència amb lapatinib	41
Taula 10.	Estudis en neoadjuvència amb platí	44
Taula 11.	Estudis de TILs en adjuvència	51
Taula 12.	Estudis de TILs en neoadjuvència	53
Taula 13.	Meta- anàlisis que avaluen el paper pronòstic dels RA	55
Taula 14.	Estudis on s'analitzen els antiandrògens com a diana terapèutica	56
Taula 15.	Característiques de les pacients (I)	76
Taula 16.	Característiques de les pacients (II)	76
Taula 17.	Tipus de tractament	77
Taula 18.	Característiques de les pacients en funció de l'IMC	78
Taula 19.	pCR en funció del subtipus IHQ	78
Taula 20.	Característiques de les pacients en funció dels TILs en 3 categories	79
Taula 21.	Associació entre TILs pre QTNA, post QTNA i paràmetres clínicopatològics	80
Taula 22.	Característiques de les pacients en funció del RA < 1% o ≥ 1%	81
Taula 23.	Característiques de les pacients en funció del RA < 10% o ≥ 10%	82
Taula 24.	Característiques de les pacients en funció del RA en 3 categories (<1%, 1-10%, ≥10%)	83
Taula 25.	Característiques de les pacients CMTN en funció del RA <1% vs. ≥1%	83
Taula 26.	Característiques de les pacients CMTN en funció del RA <10% vs. ≥10%	84
Taula 27.	Característiques de les pacients en funció de la RNL	84
Taula 28.	Característiques de les pacients CMTN en funció de la RNL	85
Taula 29.	Correlació de la RNL i de TILs en el microambient tumoral	85
Taula 30.	Comparació de les característiques clínicopatològiques de les pacients CMTN entre els TILs i la RNL	85
Taula 31.	Localització de les progressions en funció del subtipus IHQ	86
Taula 32.	Factors associats a pCR estadísticament significatius	107
Taula 33.	Efecte cru i ajustat dels TILs sobre la pCR	108
Taula 34.	Efecte cru i ajustat dels TILs sobre la SLM. Variables incloses en el model multivariant <i>stepwise</i> : classificació MiP: grau de resposta patològica local, RT axil·lar i limfadenectomia	108
Taula 35.	Efecte cru i ajustat dels TILs sobre la SG. Variables incloses en el model multivariant <i>stepwise</i> : classificació MiP: grau de resposta patològica local i RA	109
Taula 36.	Efecte dels RA sobre la SLM ajustant per aquests factors: estadiatge, ILV i invasió perineural	109

Taula 37. Efecte dels RA sobre la SG ajustat per aquests factors: tipus histològic i grau histològic	110
Taula 38. Efecte de la RNL sobre la SLM ajustat per aquests factors: estadiatge, ILV i invasió perineural	110
Taula 39. Efecte de la RNL sobre la SG ajustat per aquests factors: estadiatge, tipus histològic i grau histològic	110
Taula 40. Score o model de puntuació predictiu per pCR	110
Taula 41. Estudis que avaluen el paper pronòstic de la RNL	121
Taula 42. Meta-anàlisis que avaluen el paper pronòstic de la RNL	122
Taula 43. Estudis que avaluen el paper de la QTNA en el CLI	125
Taula 44. Estudis que avaluen el paper dels biomarcadors CA 15.3 i CEA preoperatori	126

ÍNDIX DE FIGURES

Fig. 1. Incidència i mortalitat per CM a nivell mundial	21
Fig. 2. Incidència de CM per grups d'edat	22
Fig. 3. Potencials mecanismes que relacionen l'obesitat, la diabetes i el càncer	23
Fig. 4. Família HER2	27
Fig. 5. Tumorectomia	31
Fig. 6. MRM	32
Fig. 7. Drenatge limfàtic de la mama	32
Fig. 8. Biòpsia selectiva del gangli sentinella	32
Fig. 9. Limfadenectomia	33
Fig. 10. Nivells ganglionars axi l-lars	33
Fig. 11. Probabilitat de recaiguda a distància segons RCB-0, RCB-I, RCB-II, RCB-III	39
Fig. 12. El receptor HER2 i els llocs d'unió de trastuzumab, pertuzumab i els inhibidors de petites molècules (p.ex. lapatinib)	42
Fig. 13. Diferències en l'alliberament de nab-paclitaxel i paclitaxel a la circulació	43
Fig. 14. T-DM1 i el seu mecanisme d'acció	46
Fig. 15. Tractament en tumors localment avançats HER2 positiu en funció de pCR	46
Fig. 16. Característiques del càncer	47
Fig. 17. Tipus d'immunitat	47
Fig. 18. Immunoedició del càncer	48
Fig. 19. TILs en càncer. La interacció cel·lular entre diferents grups de leucòcits i la seva predominant contribució a l'activitat pro o antitumoral	48
Fig. 20. Morfologia i definicions dels diferents infiltrats immunològics en el CM (adaptació de l'autora)	49
Fig. 21. Imatge representativa de TILs. A. No-CMPL. B. CMPL	50
Fig. 22. Diagrama de flux, pacients a estudi	75
Fig. 23. Tipus de cirurgia i pCR	77
Fig. 24. PCR segons TILs i perfil IHQ	80
Fig. 25. SLM en funció de pCR	87
Fig. 26. SG en funció de pCR	87

Fig. 27.	SLM en funció de pCR en el subtipus luminal B	88
Fig. 28.	SLM en funció pCR en el subtipus luminal B HER2	88
Fig. 29.	SLM en funció pCR en el subtipus HER2	89
Fig. 30.	SLM en funció pCR en el subtipus TN	89
Fig. 31.	SG en funció de pCR en el subtipus luminal B	90
Fig. 32.	SG en funció de pCR en el subtipus luminal B HER2	90
Fig. 33.	SG en funció de pCR en el subtipus HER2	91
Fig. 34.	SG en funció de pCR en el subtipus TN	91
Fig. 35.	SLM en funció de TILs pre QTNA. Global excepte luminal A	92
Fig. 36.	SLM en funció de TILs pre QTNA en el perfil IHQ luminal B	92
Fig. 37.	SLM en funció TILs pre QTNA en el perfil IHQ luminal B HER2	93
Fig. 38.	SLM en funció TILs pre QTNA en el perfil IHQ HER2	93
Fig. 39.	SLM en funció TILs pre QTNA en el perfil IHQ TN	94
Fig. 40.	SLM en funció TILs en la malaltia residual (post QTNA)	94
Fig. 41.	SLM en funció de TILs en la malaltia residual i pCR	95
Fig. 42.	SG en funció de TILs pre QTNA	95
Fig. 43.	SG en funció de TILs pre QTNA en el perfil IHQ luminal B	96
Fig. 44.	SG en funció TILs pre QTNA en el perfil IHQ luminal B HER2	96
Fig. 45.	SG en funció TILs pre QTNA en el perfil IHQ HER2	97
Fig. 46.	SG en funció de TILs pre QTNA en el perfil IHQ TN	97
Fig. 47.	SG en funció de TILs en malaltia residual (post QTNA)	98
Fig. 48.	SG en funció del nivell de TILs en la malaltia residual i pCR	98
Fig. 49.	SLM en funció del RA <1% vs. ≥ 1%	99
Fig. 50.	SLM en funció del RA <1% vs. ≥ 10%	99
Fig. 51.	SLM en funció del RA <10% vs. ≥10%	100
Fig. 52.	SLM en funció del RA <1% vs. 1-10% vs. ≥10%	100
Fig. 53.	SG en funció del RA <1% vs. ≥1%	101
Fig. 54.	SG en funció del RA <1% vs. ≥10%	101
Fig. 55.	SG RA en funció del RA <10% vs. ≥10%	102
Fig. 56.	SG en funció del RA <1% vs. RA 1-10% vs. RA ≥10%	102
Fig. 57.	SLM en el subtipus TN en funció del RA <1% vs. ≥1%	103
Fig. 58.	SG en el subtipus TN en funció del RA <1% vs. ≥1%	103
Fig. 59.	SLM en el subtipus TN en funció del RA <10% vs. ≥10%	104
Fig. 60.	SG en el subtipus TN en funció del RA <10% vs. ≥10%	104
Fig. 61.	SLM en funció de la RNL <3 vs. ≥3	105
Fig. 62.	SLM en el subtipus TN en funció de la RNL <3 vs. ≥3	105
Fig. 63.	SG en funció de la RNL <3 vs. ≥3	106
Fig. 64.	SG en el subtipus TN en funció de la RNL <3 vs. ≥3	106
Fig. 65.	Corva ROC del <i>score</i> o model de puntuació predictiu per PCR	111
Fig. 66.	Anàlisi de la no pCR en funció dels RA <10% vs. ≥10%	119
Fig. 67.	Evolució del maneig axi l-lar en el camp de la neoadjuvència	128
Fig. 68.	Adaptació de l'autora. Algorisme de tractament en les pacients amb CMLA en funció dels TILs i la pCR	128

ÍNDEX GENERAL

RESUM	15
ABSTRACT	17
1- INTRODUCCIÓ	19
1.1- INTRODUCCIÓ AL CÀNCER DE MAMA	21
1.1.1- Epidemiologia	21
1.1.2- Diagnòstic	23
1.1.3- Tractament	31
1.2- TILS EN EL CÀNCER DE MAMA	47
1.3- RECEPTOR ANDROGÈNIC EN EL CÀNCER DE MAMA	54
1.4- RÀTIO NEUTRÒFIL /LIMFÒCIT EN EL CÀNCER DE MAMA	57
2- HIPÒTESIS	59
2.1- Principal	61
2.2- Secundàries	61
3- OBJECTIUS	63
3.1- Principal	65
3.2- Secundaris	65
4- MATERIAL I MÈTODES	67
4.1- Disseny	69
4.2- Població a estudi	69
4.3- Mostra a estudi	69
4.4- Mostreig i reclutament	69
4.5- Principals factors a estudi	69
4.6- Principals mesures de resultat	70
4.7- Temps de seguiment	70
4.8- Altres variables a estudi	70
4.9- Fonts d'informació	71
4.10- Gestió i anàlisi de dades	71
4.11- Anàlisi estadística	71
5- RESULTATS	73
5.1- Diagrama de flux	75
5.2- Anàlisi descriptiva	75
5.2.1- TILs	78
5.2.2- Receptor androgènic	81
5.2.3- Ràtio neutròfil/ limfòcit	84
5.2.4- Seguiment	86

5.3-	Supervivència global	86
5.4-	Anàlisi de supervivència	86
5.4.1-	Anàlisi de supervivència en funció de la pCR	86
5.4.2-	Anàlisi de supervivència en funció dels TILs	92
5.4.3-	Anàlisi de supervivència en funció del receptor androgènic	99
5.4.4-	Anàlisi de supervivència en funció de la ràtio neutròfil/ limfòcit	105
5.5-	Anàlisi bivariada i multivariada	107
5.5.1-	Efecte dels TILs sobre la pCR	107
5.5.2-	Efecte dels TILs sobre la SLM	108
5.5.3-	Efecte dels TILs sobre la SG	109
5.5.4-	Efecte del RA sobre la SLM	109
5.5.5-	Efecte del RA sobre la SG	109
5.5.6-	Efecte de la RNL sobre la SLM	110
5.5.7-	Efecte de la RNL sobre la SG	111
5.6-	Model de puntuació de probabilitat o <i>score</i> per pCR	111
6- DISCUSSIÓ		113
6.1-	TILs	115
6.1.1-	Paper predictiu i pronòstic dels TILs	115
6.1.2-	TILs i antraciclins	116
6.1.3-	TILs i obesitat	117
6.1.4-	Tils i edat	117
6.2-	Receptor androgènic	118
6.2.1-	Paper predictiu i pronòstic del receptor androgènic	118
6.3-	Paper predictiu i pronòstic de la ràtio neutròfil/ limfòcit	120
6.4-	Paper predictiu i pronòstic de la pCR	122
6.5-	Característiques clínico-patològiques de la mostra	123
6.5.1-	Carcinoma lobel·lar en el camp de la neoadjuvència	124
6.5.2-	CA 15.3 en el camp de la neoadjuvència	125
6.5.3-	Biòpsia del gangli sentinella en el camp de la neoadjuvència	126
6.6-	Fortaleses i debilitats	129
7- CONCLUSIONS		131
8- LÍNIES DE FUTUR		133
9- BIBLIOGRAFIA		135
10- ANNEXOS		165
10.1-	AJCC 8 ^a edició	167
10.2-	Informe del Comitè d'Investigació Clínica	174

RESUM

INTRODUCCIÓ

Actualment en càncer de mama hi ha estudis per validar i estandarditzar l'avaluació dels TILs que poden ser uns bons marcadors pronòstics i predictius sobretot en els subtipus HER2 i triple negatiu i així incorporar-los en la pràctica clínica habitual. Altres marcadors que actualment també s'estan estudiant com factors predictius i pronòstics són els receptors androgènics i la ràtio neutròfil/limfòcit.

L'objectiu principal del nostre estudi és analitzar el paper predictiu i pronòstic dels TILs en les pacients diagnosticades de càncer de mama localment avançat estadi II i III tractades amb quimioteràpia neoadjuvant en funció del subtipus immunohistoquímic a l'hospital de Mataró des de gener de 2002 a desembre de 2015. Com a objectius secundaris també s'analitza el paper predictiu i pronòstic dels receptors androgènics i de la ràtio neutròfil /limfòcit.

METODOLOGIA

S'ha realitzat un estudi observacional, unicèntric i retrospectiu. Per analitzar l'associació entre les categories de TILs, receptors androgènics i ràtio neutròfil/limfòcit i les variables clínico-patològiques s'ha utilitzat el test de Xi- quadrat o l'exacte de Fisher per comparar proporcions i el test U de Mann-Whitney per comparar mitjanes. Les variables estadísticament significatives ($p < .05$) s'han inclòs en un model de regressió logística multivariant. Per analitzar la SLM i SG s'han realitzat corbes de supervivència amb taules de Kaplan-Meier. Posteriorment, s'han analitzat models de regressió de Cox simple i múltiple per valorar els efectes simples i independents dels diferents factors sobre la recaiguda i la supervivència global.

RESULTATS

El valor de TILs $\geq 60\%$ (pCR (OR: 10.60; IC 95%, 1.38-81.68; $p=0.047$)) i la ràtio neutròfil/limfòcit <3 són factors predictius de resposta (78.6% de les pacients que van aconseguir una pCR presentaven una RNL <3 , $p=0.026$) a quimioteràpia neoadjuvant; al contrari, els receptors androgènics són un paràmetre predictiu de quimioresistència (90.75% de les pacients amb RA $\geq 10\%$ no van aconseguir una pCR, $p < 0.001$). Els RA $\geq 10\%$ i $\geq 10\%$ són factors pronòstics de SLM i SG, $p=0.042$ i $p=0.026$ respectivament.

S'ha creat un *score* que inclou TILs, RA, RE, Ki-67, HER2, RNL i CA 15.3 que permet estratificar a les pacients en 4 grups per predir la pCR.

CONCLUSIONS

El nostre estudi demostra que el nivell de TILs i la RNL són biomarcadors predictius de resposta ja que s'associen a un augment de pCR amb quimioteràpia neoadjuvant en tots els subtipus analitzats; en canvi, el RA és un paràmetre de quimioresistència i un marcador pronòstic per SLM i SG.

ABSTRACT

BACKGROUND

Currently in breast cancer there are studies to validate and standardize the evaluation of TILs which can be good prognostic and predictive markers especially in the HER2 and triple negative subtypes and thus incorporate them into routine clinical practice. Other markers that are currently also being studied as predictive and prognostic factors are androgenic receptors and the neutrophil/lymphocyte ratio.

The main objective of our study is to analyze the predictive and prognostic role of TILs in patients diagnosed with locally advanced stage II and III breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy based on the immunohistochemical subtype at the Mataró hospital since January 2002 in December 2015. As secondary objectives, the predictive and prognostic role of androgen receptors and the neutrophil/lymphocyte ratio is also analyzed.

METHODOLOGY

An observational, unicentric, retrospective study has been conducted. To analyze the association between the categories of TILs, androgen receptors, and the neutrophil / lymphocyte ratio and the clinico-pathological variables, the X-square test or Fisher's exact test was used to compare proportions and the Mann-Whitney U test to compare averages. Statistically significant variables ($p < .05$) were included in a multivariate logistic regression model. Survival curves were performed with Kaplan-Meier tables for SLM and SG analysis. Subsequently, single and multiple Cox regression models were analyzed to assess the simple and independent effects of different factors on overall relapse and survival.

RESULTS

The value of TILs $\geq 60\%$ (pCR (OR: 10.60; CI 95%, 1.38-81.68; $p=0.047$)) and the neutrophil/lymphocyte ratio <3 are predictive factors of response (78.6% of patients who achieved a pCR presented an RNL <3 , $p=0.026$) to neoadjuvant chemotherapy; on the contrary, androgenic receptors are a predictive parameter of chemoresistance (90.75% of patients with RA $\geq 10\%$ did not achieve a pCR, $p<0.001$). RA $\geq 1\%$ and $\geq 10\%$ are prognostic factors of SLM and SG, $p=0.042$ and $p=0.026$ respectively.

A score has been created that includes TILs, RA, RE, Ki-67, HER2, RNL and CA 15.3 that allows patients to be stratified into 4 groups to predict pCR.

CONCLUSIONS

Our study demonstrates that the level of TILs and RNL are predictive biomarkers of response as they are associated with an increase in pCR with neoadjuvant chemotherapy in all subtypes analyzed; in contrast, androgen receptor is a chemoresistance parameter and a prognostic marker for SLM and SG.

INTRODUCCIÓ

1- INTRODUCCIÓ

1.1- INTRODUCCIÓ AL CÀNCER DE MAMA

1.1.1- Epidemiologia

El càncer de mama (CM) és el tumor maligne més freqüent entre les dones i un important problema de salut mundial tant per la seva elevada incidència i mortalitat com per les seves repercussions físiques, psicològiques i econòmiques en la població (1)(2).

A nivell mundial, l'any 2020 es van diagnosticar 2.261.419 casos de CM (11,7%) del total de diagnòstics per càncer i van morir 684.996 (6,9%) (3). A Europa, s'estima una incidència de 450.000 casos i 139.000 morts anuals (4) i a Espanya, segons estudis recents, 34.750 nous casos i 6.651 morts anualment (5) (Fig. 1).

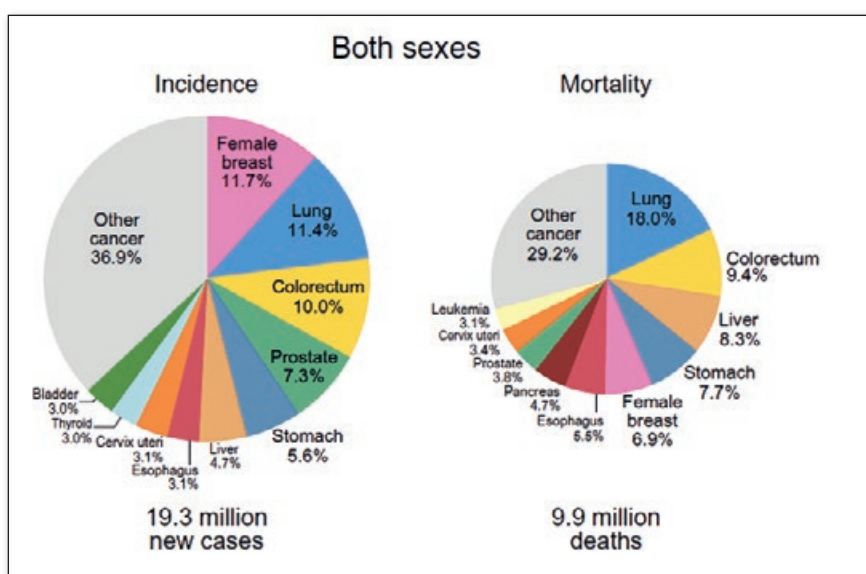


Figura 1. Incidència i mortalitat per CM a nivell mundial.

Font: GLOBOCAN 2020. Global Cancer Observatory (<http://gco.iarc.fr/>). International Agency for Research on Cancer 2021.

La incidència del càncer, inclòs el CM, ha experimentat un continu augment i això és degut a diferents factors entre els que destaquen l'augment de l'esperança de vida i les millores tècniques del cribratge poblacional (detecció precoç). Malgrat això, en els països desenvolupats, la majoria dels casos es diagnostiquen en estadis inicials i això fa que la malaltia sigui potencialment curable amb una supervivència als 5 anys d'un 83% aproximadament; no obstant, tot i els avenços en les teràpies locals i amb la incorporació de nous fàrmacs, fins a un 30-40% de les pacients recauran (6).

Factors de risc

S'han identificat diferents factors de risc associats al CM que podem classificar en no modificables i modificables.

Factors no modificables

- **Edat:** l'envelliment és un dels factors de risc més importants de desenvolupar càncer i és el principal per CM. L'edat de diagnòstic més freqüent és entre els 55 i 64 anys (Fig. 2) amb una mitjana de 61 anys (7). Menys del 5% es diagnostica en dones menors de 40 anys i com la majoria de neoplàsies augmenta amb l'edat (8).

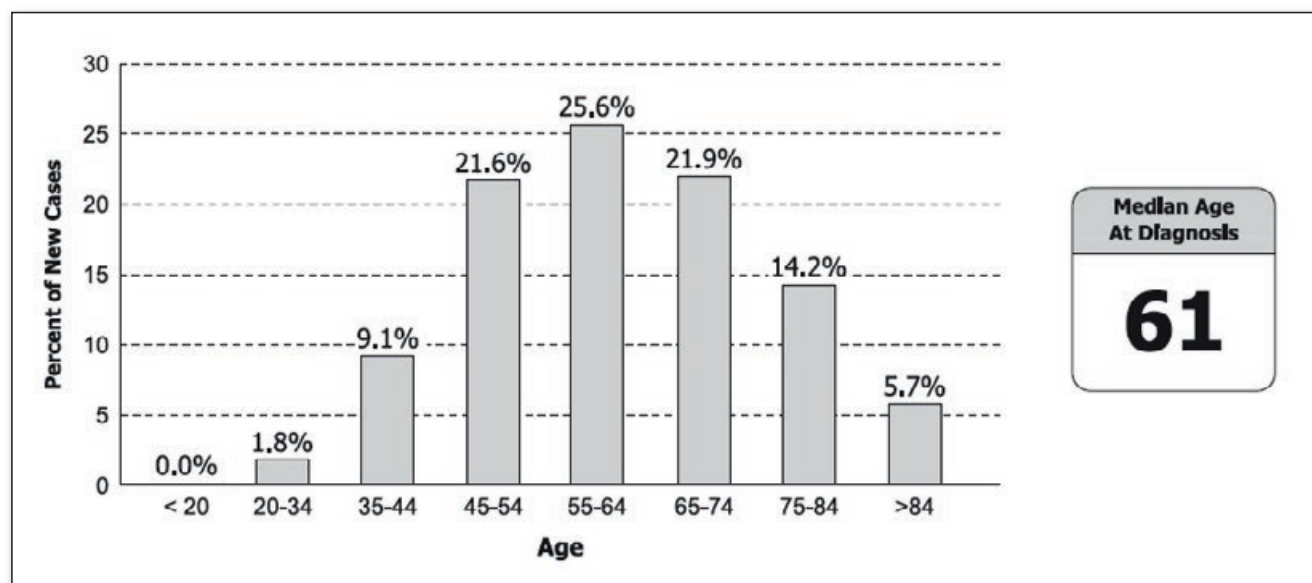


Fig. 2. Incidència de CM per grups d'edat (9).

- **Factors hormonals endògens:** la menarquia precoç (10) i la menopausa tardana (11) s'han relacionat amb l'augment del CM degut a la durada de l'exposició a estrògens.
- **Antecedents familiars:** el CM és hereditari entre un 5-10% (12). El 20-25% de les mutacions responsables estan localitzades als gens reparadors de tumors com BRCA 1 i 2. Això afageix un risc de desenvolupar un CM al llarg de la vida d'un 60% en les portadores de mutació del gen BRCA 1 i un 50% en BRCA 2 (13). Altres gens relacionats són PALB2, p53, CDH1, ATM i CHEK2 (14).
- **Lesions proliferatives benignes a la mama:** poden ser sense atípia (el risc de desenvolupar CM és de 1.5 a 2 vegades més freqüent) i amb atípia (de 3.7 a 5.3 vegades més freqüent) (15).
- **Densitat teixit mamari:** diferents estudis han estimat que el risc de desenvolupar un CM és de 2 a 6 vegades major en aquelles dones amb alta densitat mamària. En un meta-anàlisi de més de 14.000 pacients, es va detectar una forta associació entre l'augment de densitat mamària i el risc de desenvolupar-lo (16).
- **Gènere:** s'associa predominantment a les dones. Només un 1% de tots els CM està descrit en els homes (17). Les diferències hormonals expliquen aquest comportament epidemiològic degut a que l'exposició a estrògens és el factor de risc més determinant.
- **Raça:** diferents grups racials/ ètnics que inclouen la raça negra, la raça blanca hispànica i la india americana, tenen més probabilitat de diagnòstic de CM avançat i per tant, un pitjor pronòstic comparat amb les dones de raça blanca no hispànica (18).

Factors modificables

- **Obesitat:** l'obesitat és un factor de risc independent per diferents càncers incloent el de mama. Un meta-anàlisi va demostrar un increment del 30% en el risc de recurrència o mort en les dones obeses vs. les dones amb normopès diagnosticades de CM (19).

L'obesitat està associada amb una resistència a la insulina que eleva els nivells d'aquesta i l'*insulin-like growth factor 1* (IGF-1), ambdós potents factors de creixement del CM (20). Estudis epidemiològics han demostrat una correlació positiva entre *diabetes mellitus* (DM) tipus 2 i el risc de desenvolupar i morir per diferents tipus de càncer, incloent el CM (21). (Fig. 3).

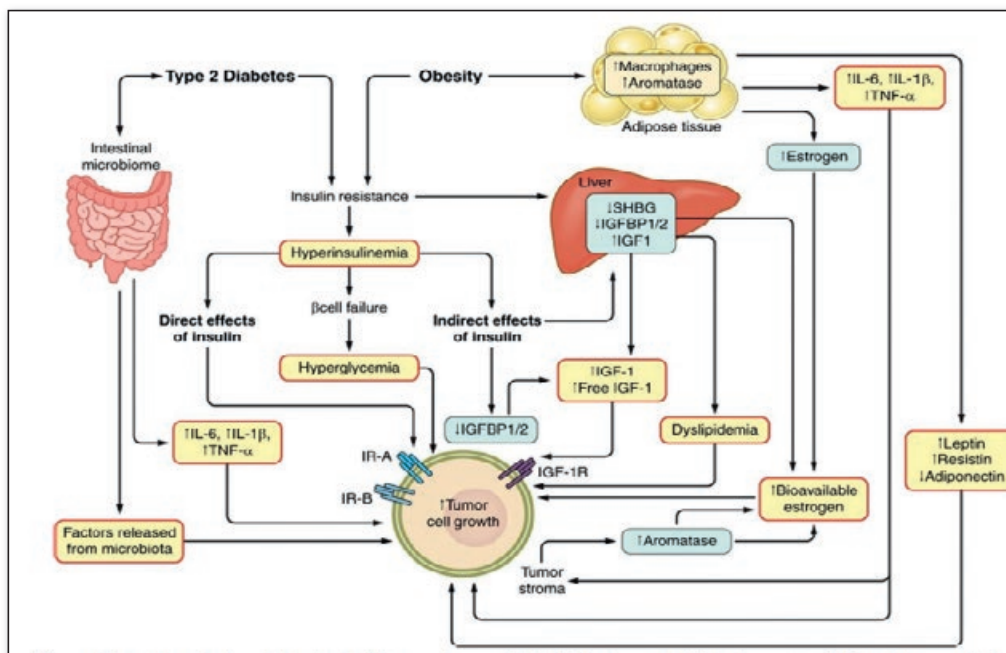


Fig. 3. Potencials mecanismes que relacionen l'obesitat, la diabetis i el càncer (22).

- Carcinògens químics com l'alcohol (23) o el tabac (24) i físics com les radiacions ionitzants (25)(26) en menor freqüència.
- Factors hormonals exògens: l'embaràs amb l'endarreriment de la maternitat, el descens de la paritat i l'ausència de lactància materna augmenten el risc de CM (27).

1.1.2- Diagnòstic

Diagnòstic clínic

El programa de detecció precoç o de cribratge del CM té com a objectiu reduir la mortalitat mitjançant el seu diagnòstic en estadis inicials en dones asimptomàtiques. A més, permet tractaments menys agressius amb un impacte en el pronòstic i en la millora de la qualitat de vida de les pacients (28).

En els països on es realitzen programes de cribratge, la majoria de tumors (aproximadament un 90%) es diagnostiquen en una etapa preclínica mitjançant mamografia (29)(30). La resta, es diagnostiquen per autopalpació.

L'estadiatge clínic del CM ha d'incloure l'avaluació del tamany, la movilitat i els canvis cutanis tant del tumor primari com dels ganglis limfàtics regionals.

Diagnòstic radiològic

Les proves radiològiques que s'utilitzen són la mamografia, l'ecografia i la ressonància magnètica (RMN).

Mamografia

És la tècnica radiològica d'elecció en els programes de cribratge. Té una sensibilitat del 60-95% (aquesta disminueix en les pacients que tenen mames denses) i una especificitat del 80-90% (31).

Les troballes radiològiques a la mamografia es classifiquen segons el sistema *Breast Imaging Reporting and Data System* (BI-RADS) (32)(33). Aquest sistema es va crear al 1992 pel *American College of Radiology* (ACR) (34) amb l'objectiu d'estandarditzar els informes mamogràfics al proporcionar un lèxic específic per

les lesions mamàries mitjançant les diferents tècniques d'imatge. Posteriorment es van realitzar quatre edicions més al 1995, 1998, 2003 i la última al 2014 (35). En aquest sistema de classificació (que també s'utilitza en ecografia i RMN mamària) cada categoria es correspon amb una probabilitat diagnòstica de malignitat determinada i unes recomanacions de maneig (Taula 1).

CATEGORIA BI-RADS	RECOMANACIÓ	PROBABILITAT DE MALIGNITAT
BI-RADS 0 Incomplet	Imatges addicionals Revisar exàmens anteriors	No avaluable
BI-RADS 1 Normal	Mateix seguiment	0%
BI-RADS 2 Benigna	Mateix seguiment	0%
BI-RADS 3 Probablement benigna	Control 4 mesos per masses i 6 mesos per microcalcificacions	≤ 2%
BI-RADS 4 Sospitós de malignitat 4A: Baix 4B: Moderat 4C: Alt	Requereix biòpsia	> 2% entre < 95% > 2% a ≤ 10% > 10% a ≤ 50% > 50% a < 95%
BI-RADS 5 Molt sospitós de malignitat	Requereix biòpsia	≥ a 95%
BI-RADS 6 Malignitat comprovada	Tractament adequat	Diagnòstic establert

Taula 1. Classificació BI-RADS (35).

Ecografia

L'ecografia de mama està indicada en les dones amb mames denses, durant l'embaràs i la lactància així com per complementar la informació aportada per la mamografia i ajudar a diferenciar entre una massa sòlida i una quística. És la tècnica d'elecció per realitzar una biòpsia (també anomenat *tru-cut*) de mama.

En les pacients amb càncer de mama localment avançat (CMLA) tributàries de tractament sistèmic neoadjuvant; és a dir, previ a la cirurgia, és la tècnica d'elecció per guiar el marcatge de la lesió amb un marcador de titani radiopac.

A nivell axil·lar, és la tècnica d'elecció per l'estadificació de l'aixella sobretot a nivell preoperatori i després de la neoadjuvència prèvia a la cirurgia ja que complementa la informació axil·lar que no aporta la RMN.

És una tècnica radiòleg- dependent; és a dir, depèn de l'habilitat del radiòleg i de la posició de l'ecògraf per tal de poder definir la imatge.

RMN mama

La RMN mamària està indicada en l'estudi dels tumors lobel·lars, en tumors amb afectació axil·lar però amb un tumor primari ocult, en pacients portadores de mutació BRCA1/2, en la malaltia de Paget (càncer de mama amb afectació del mugró) sense identificació de tumor per mamografia o ecografia, en pacients portadores d'implants mamaris i, finalment, en l'avaluació d'un tumor localment avançat previ a l'inici del

tractament sistèmic neoadjuvant (determina l'extensió real de la lesió, la multifocalitat i la bilateralitat del tumor, la detecció d'adenopaties a la cadena mamària interna, el component intraductal associat així com el grau d'infiltració o la distància al múscul pectoral). La RMN després d'un tractament neoadjuvant orienta el grau de resposta i permet planificar millor la cirurgia (36).

Té una sensibilitat del 81 al 100% i una especificitat del 86% (37), fet que augmenta la taxa de falsos positius (10-15%) (38) i per tant el número de biòpsies (39).

Diagnòstic anatomopatològic

La caracterització anatomopatològica de les troballes sospitoses per imatge és un pas essencial en el procés diagnòstic del CM i s'ha de realitzar abans d'iniciar cap tractament. L'obtenció de mostres es pot realitzar mitjançant una punció-aspiració amb agulla fina (PAAF), una biòpsia amb agulla gruixuda (BAG), una biòpsia assistida per buit (BAB) o, en cas de lesions a la pell, d'un *punch* cutani que és una biòpsia de la pell per determinar el grau d'infiltració d'aquesta.

Diagnòstic citològic

La PAAF és una tècnica que cada vegada s'utilitza menys davant la biòpsia doncs s'obté molt poca mostra. A més, la sensibilitat i especificitat depenen de l'habilitat del citòleg (sensibilitat del 80-100% i especificitat del 99% segons les sèries) (40).

Està indicada en el diagnòstic de malignitat d'una lesió mamària (no permet diferenciar entre un carcinoma *in situ* i un infiltrant), en el diagnòstic diferencial d'una massa quística, en la confirmació de lesions mamàries sospitoses addicionals identificades en les proves d'imatge, en l'avaluació de multifocalitat/ multicentricitat, en l'estudi de les adenopaties axil·lars sospitoses i per avaluar les lesions metastàsiques (41).

Diagnòstic histològic

La BAG és el mètode d'elecció pel diagnòstic del CM. Permet diferenciar entre una lesió *in situ* o invasiva i permet la realització de tècniques d'immunohistoquímica (IHQ) per determinar biomarcadors essencials en el diagnòstic del CM com els receptors hormonals (RH) d'èstrogen i progesterona, la sobreexpressió de HER2 i l'índex proliferatiu Ki-67. Té una sensibilitat 89% i una especificitat del 100% (42).

La BAB es diferencia de la BAG en que pot obtenir múltiples cilindres amb una sola incisió cutània. Finalment, el *punch* cutani ja comentat prèviament.

Classificació histològica

Segons la Classificació de l'Organització Mundial de la Salut (OMS) de 2012 a la mama es descriuen neoplàsies d'origen divers (43). La última actualització és de 2019 (44). Les més comuns són els carcinomes (d'origen epitelial), sarcomes (d'origen mesenquimal) i limfomes (d'origen hematopoiètic). De tots elles, la d'origen epitelial és la més freqüent.

El carcinoma pot ser *in situ* (proliferació maligna que es produeix a l'interior del conducte mamari sense traspasar la membrana basal) o invasiu (traspasa la membrana basal i, per tant, pot arribar als vasos sanguinis i limfàtics el que afavorirà l'aparició de metàstasis).

Dins el càncer de mama invasiu, la histologia més freqüent és el carcinoma ductal actualment anomenat no especial (75%) seguit del carcinoma lobel·lar (10%). La resta d'histologies estan dins un grup mixt (5%) on es troben els subtipus papilar, apocrí, tubular, mucinós, medular, cribiforme o metaplàsic com a més freqüents (44).

La descripció microscòpica d'un CM després d'una cirurgia ha d'incloure:

- **Tumor**

- Tipus histològic, segons la classificació de la OMS
- Tamany tumoral
- Invasió vascular i limfàtica (present/absent)
- Grau histològic (I-III)
- Índex mitòtic
- Presència i extensió del carcinoma *in situ* associat
- Afectació d'epidermis, ulceració ...
- Marges de ressecció

- **Ganglis limfàtics regionals**

- Nombre total de ganglis examinats
- Nombre total de ganglis afectats
- Tamany de la metàstasi més gran
- Nombre de micrometàstasis
- Ruptura extracapsular (present/ absent)

- **Estudis IHQ**

- RH d'estrógen i progesterona
- HER2
- Ki-67

Factors pronòstics i predictius

El CM és una malaltia heterogènia amb diferents subtipus histològics, immunohistoquímics i moleculars. Conèixer els factors pronòstics i predictius són essencials per poder predir el risc de recaiguda i estimar la probabilitat de resposta als tractaments.

Factor pronòstic: És qualsevol mesura disponible en el moment del diagnòstic que es correlaciona amb l'evolució de la malaltia en absència de tractament. Selecciona els pacients que es poden beneficiar d'un tractament adjuvant, és a dir, després de la cirurgia.

Els principals factors pronòstics s'obtenen a la biòpsia (diàmetre tumoral, afectació ganglionar, grau de diferenciació cel·lular, expressió de RH, HER2 i Ki-67), però alguns depenen de la pròpia pacient (edat i estat menopàusic).

Factor predictiu: És qualsevol mesura que es relaciona amb la probabilitat de resposta a un tractament específic.

Coincideix que alguns d'aquests factors (p.ex els RH o HER2) són a la vegada pronòstics i predictius.

Receptors hormonals

El RH són d'estrógen i progesterona. El 75% dels CM expressen receptors d'estrógen (RE) i el 70% d'aquests coexpressen receptors de progesterona (RPg). El RPg està expressat en el 60-70% (45).

Es considera la positivitat dels RH a partir del 1% dels nuclis de les cèl·lules del carcinoma amb patró infiltrat (46). El punt de tall per definir que el resultat és positiu és $\geq 1\%$ independentment de la intensitat de la tinció.

L'expressió del RE és un factor pronòstic favorable i fortament predictiu de resposta al tractament hormonal (47)(48). Aproximadament, el 30-40% dels pacients que expressen RE en el CMLA tindran una resposta objectiva al tractament hormonal i més d'un 20% dels pacients aconseguiran una estabilització del tumor (47).

En general, la relació entre RE i RPg és bona encara que un 10% dels casos poden expressar RE però no RPg. Aquests casos tenen més risc de recaiguda que els tumors positius per RE i RPg (48).

-HER2

Junt amb els RH, HER2 és el marcador pronòstic i predictiu més important en el CM. HER2/neu també conegut com ErbB2 és un proto-oncogen localitzat al braç llarg del cromosoma 17. Pertany a la família de les glicoproteïnes HER/erbB i està formada per quatre membres: *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) o HER1, HER2, HER3 i HER4 (Fig.4). Els receptors de HER es caracteritzen per ser glicoproteïnes transmembrana compostes per 3 dominis (extracel·lular, transmembrana i intracel·lular amb activitat protein-quinasa). Quan aquests receptors s'activen, són traslocats al nucli on participen en la senyal cel·lular. La dimerització d'aquests receptors genera una cascada de senyalització capaç d'activar altres vies, les més importants són la via Raf/Ras/MAP quinasa, la via de la fosfolipasa D gamma i la via de senyalització PI3K quinasa/AKT. D'aquesta manera es controlen nombrosos processos cel·lulars com l'angiogènesi, la proliferació, la diferenciació, la supervivència/ apoptosi, la migració i la invasió cel·lular (49).

La sobreexpressió de HER2 està descrita en un 15-20% dels CM (50). Actualment, HER2 es pot determinar al laboratori per diferents mètodes diagnòstics: IHQ, hibridació *in situ* per fluorescència (FISH), hibridació *in situ* cromogènica (CISH) i hibridació *in situ* reforçada amb plata (SISH).

La IHQ és la tècnica més àmpliament utilitzada per determinar l'estat de HER2. Aquesta tècnica expressa el resultat en una escala de tres, en funció de la intensitat de l'expressió de membrana:

- Negatiu (score 0 o 1+).
- Equívoc/ dubtós (score 2+).
- Positiu (score 3+).

En els casos equívocs està indicat ampliar l'estudi amb una tècnica d'hibridació *in situ* (ISH) per establir de manera fiable l'amplificació del gen.

La determinació de HER2 és complicada amb taxes de discordància entre un laboratori local i un central i expert fins un 20% per IHQ i per tècniques de FISH (51). No es poden acceptar errors degut a que l'estat de HER2 s'utilitza per seleccionar pacients per una teràpia dirigida i amb una toxicitat associada.

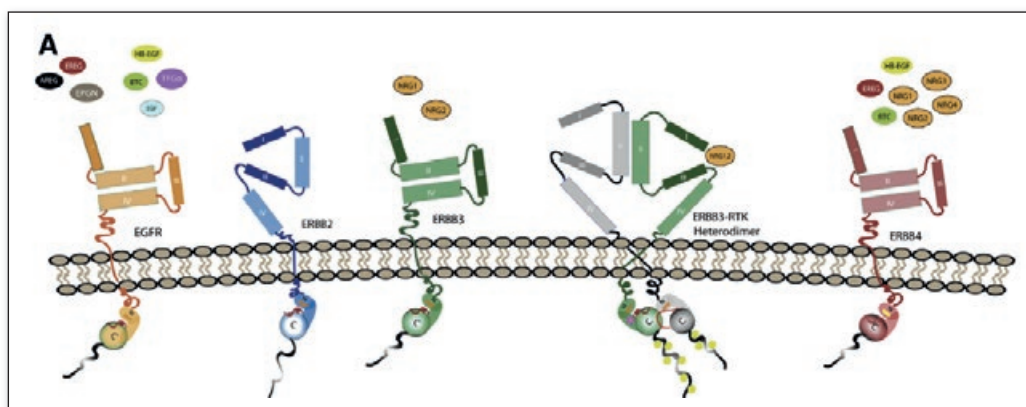


Fig. 4. Família HER2 (52).

Ki-67

Ki 67 és una proteïna nuclear no histona que s'associa a la proliferació cel·lular; està present a fases actives del cicle cel·lular (G1, S, G2 i mitosi). Donada la facilitat per a la seva determinació per IHC s'ha convertit en un marcador àmpliament utilitzat. No obstant, presenta una alta variabilitat no només interpatòlegs sinó també entre centres.

Els punts de tall de Ki-67 no estan clarament definits: algunes guies defineixen com "baixa activitat proliferativa" nivells de Ki-67 <10% i "alta activitat proliferativa" >30%; no obstant, el punt crític normalment està entre el 10 i el 20% (53). El nivell de Ki-67 \geq 25% està associat amb pitjor pronòstic segons un meta-anàlisi publicat al 2015 (54). En aquest estudi, un valor de Ki-67 \geq 25% presentava una *hazard ratio* (HR) per supervivència global (SG) del 2.05 (IC 95%, 1.66-2.53, $p < 0.00001$), significativament diferent a estudis on el punt de tall era < 25%. Es va concloure que Ki-67 tenia un valor pronòstic independent en termes de SG en pacients amb CM. El llindar de Ki-67 amb la millor significació pronòstica encara no es coneix, però un punt de tall \geq 25% està associat amb major risc de mort comparat amb percentatges menors.

En combinació amb l'expressió de RPg, el Consens de St Gallen 2013 va establir 4 categories basades en els nivells de Ki-67: < 14, 14-19, 20-25 i > 25%. Un tall de 20% és el recomanat per diferenciar entre luminal A i B (55). No obstant, les guies de l'*American Society of Clinical Oncology* (ASCO) en la utilització de biomarcadors per indicar les decisions en el tractament adjuvant no recomanen el seu ús (56); per això, precisem més estudis per estandarditzar el valor d'aquest marcador perquè pugui ser validat (57).

Grau histològic

El grau histològic (GH) junt amb el tamany tumoral i l'estat ganglionar són paràmetres amb un valor pronòstic i predictiu independent (58)(59). A més, el seu valor pronòstic ha estat demostrat en nombrosos estudis en els que s'observa repetidament un major índex de metàstasis a distància i, per tant, pitjor SG en pacients amb tumors d'alt grau independentment de l'afectació ganglionar i el tamany tumoral (60).

Encara que el grau és àmpliament utilitzat per avaluar el pronòstic en pacients amb CM, té dues limitacions principals: la primera és la falta de reproductibilitat de la gradació entre patòlegs; no obstant, l'escala de *Scarff-Bloom-Richardson* (SBR) i la de *Nottingham* (SBR modificada) que s'utilitzen actualment, s'han reportat com les més reproduïbles (61)(62). La segona limitació és que la majoria de tumors es classifiquen com a grau 2 o intermig pel que hi ha un gran grup heterogeni respecte els resultats (63).

D'altra banda, en el tractament amb quimioteràpia neoadjuvant (QTNA), la concordància entre el GH de la biòpsia i el de la peça quirúrgica pot variar del 59-91% (64).

Tamany tumoral

Després de l'afectació ganglionar axil·lar, el tamany tumoral és, probablement, el factor pronòstic més rellevant i un dels principals per delimitar grups de risc en pacients amb CM sense afectació ganglionar. Existeix, a més, una relació directe amb l'afectació ganglionar. El tamany tumoral s'utilitza de forma rutinària com a factor pronòstic per la selecció del tractament adjuvant.

La probabilitat de metàstasis augmenta amb el tamany tumoral independentment del nombre de ganglis afectats; per tant, tumors <1cm tenen als 5 anys una supervivència aproximada del 100% comparat amb el 89% dels pacients amb tumors de 1 a 3 cm i del 86% en tumors de 4 a 5 cm (65).

Afectació ganglionar axil·lar

El factor pronòstic més significatiu als estadis inicials del CM és la presència o ausència d'afectació

ganglionar axil·lar. Hi ha una relació directa entre el nombre de ganglis afectats i el risc de recaiguda i/o disseminació metastàsica. Tant la supervivència lliure de malaltia (SLM) com la SG disminueixen amb l'augment del nombre de ganglis axil·lars afectes. La SLM als 5 anys en pacients amb tumors sense afectació ganglionar és aproximadament del 80% i si els ganglis estan afectats i no reben tractament adjuvant és del 63% (66).

La probabilitat d'afectació ganglionar axil·lar està relacionada, com hem dit, amb el tamany del tumor, la localització, el GH i la presència d'invasió limfàtica (67). Així, el risc d'afectació ganglionar en un T1a (tumor de menys de 6 mm) és del 5% i en un T4 (tumor de qualsevol tamany amb extensió directe a la paret toràcica o a la pell) del 86% (68).

A la majoria d'estudis l'estat ganglionar s'estratifica en quatre grups diferents: ganglis negatius, ganglis positius de 1 a 3, de 4 a 9 i ≥ 10 . Això es basa en un estudi del grup *National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project* (NSABP) que va demostrar que la SG als 5 anys era del 83% per ganglis negatius, 73% per ganglis positius 1-3, 46% per ganglis positius de 4-12 i 28% ≥ 13 ganglis positius (69). Per tant, el risc de recaiguda en pacients amb ganglis positius es suficientment alt (superior al 20%) pel que s'ha de garantir un tractament adjuvant complementari.

Marges de resecció

L'estat dels marges de resecció és un potent indicador del risc de recaiguda local després de la cirurgia conservadora (70). La distància del tumor als marges es medeix en mil·límetres; es valora la distància al component infiltrant i al component *in situ* del tumor. La taxa de recaiguda local per casos amb marges negatius o pròxims és del 7%, pels casos amb afectació focal del 14% i per casos amb marge positiu múltiple del 27% (71). Una revisió sobre la importància dels marges de resecció en el tractament conservador del CM indica que la taxa de recaiguda local és major en pacients amb marges positius i augmenta amb el temps de seguiment (72). Independentment del tractament complementari postquirúrgic no es considera acceptable deixar marges positius.

En els casos de CD *in situ*, s'observa una reducció de la recaiguda locoregional quan el tumor està com a mínim a 2 mm del marge. Si només hi ha un focus de CD *in situ* prop del marge, s'ha de valorar en cada cas el benefici clínic vs. els riscos de la reintervenció.

Invasió vascular i limfàtica

La presència d'invasió tumoral vascular i limfàtica és un factor pronòstic advers i es relaciona amb major recurrència local, menor SLM i SG (73). Donada la dificultat, en ocasions, de diferenciar entre vasos capil·lars venosos i limfàtics, no es obligatòria la distinció entre els dos, per aquest motiu es diu de forma genèrica com a invasió limfovascular.

Classificació TNM

La malaltia s'ha d'estadificar amb la informació clínica i patològica (obtinguda després de la cirurgia) disponible d'acord amb el sistema d'estadificació TNM de l'*American Joint Committee on Cancer* (AJCC). A la vuitena i última edició, recentment publicada (74), el principal canvi és la consideració de dades relacionades amb la biologia de la malaltia (grau histològic, estat dels RE i RPg i HER2) per l'assignació de l'estadi en conjunt amb la informació del tumor primari (T), l'afectació ganglionar regional (N) i la presència de metastasis a distància (M). Aquesta classificació ens permetrà estimar el pronòstic i risc de recaiguda per decidir el tractament en cada cas. A l'annex 1 adjuntem les taules segons la AJCC per l'estadificació tumoral.

Classificació IHQ, molecular i genòmica del CM

Clàssicament, el CM s'ha diagnosticat per tècniques d'IHQ i es divideix en tres grups amb diferents necessitats terapèutiques: tumors hormonodepenents (RH positius per estrògens +/- progesterona i HER2 negatiu (RH+ i HER2-), tumors HER2 positius (sobrexpressen la proteïna HER2) i tumors triple negatiu (RH i HER2 negatiu). Aproximadament el 70% dels CM són RH positius i HER2 negatiu (75), el 20% HER2 positiu (76) i el 15-18% triple negatiu (77). A la Taula 2 s'ofereix al lector un resum de la classificació IHQ.

En els últims anys, els avenços en biologia molecular i seqüenciació del genoma humà ens han permès conèixer les alteracions genètiques associades a diferents malalties. També ens han proporcionat coneixement sobre l'heterogeneïtat del càncer o inclús dins d'una mateixa patologia tumoral, diferenciar subgrups de característiques biològiques amb pronòstics diferents. L'any 2000 el *Dr. Charles M. Perou* i col. va publicar a la revista *Nature* l'article que ha estat clau per a la nova classificació del CM (78). Mitjançant un estudi amb *microarrays* (tècnica per l'estudi de molts gens simultàniament) va definir 5 tipus de CM: luminal A, luminal B, basal-like, HER2 positiu i normal-like. Els 4 primers són els que tenen major importància en la pràctica clínica diària. La correlació entre el fenotipus tumoral i el seu perfil genètic té les seves limitacions encara que, segons els criteris de *St. Gallen* (79), podem establir-la de manera que podem assignar un subtipus molecular al tumor en funció de la seva expressió de marcadors per IHQ.

Luminal A: aquest grup representa el 75-80% dels CM. Es caracteritza per l'alta expressió de gens associats a les cèl·lules epitelials luminals del ducte mamari. Engloba el grup de tumors que expressen RE. Es caracteritza per RH positius, HER2 negatiu i Ki-67 baix (<14%). Tenen bon pronòstic amb major supervivència i menor incidència de recaigudes visceral i a sistema nerviós central (SNC), alta taxa de resposta a hormonoteràpia (HT) i escàs benefici de quimioteràpia (QT) adjuvant.

Luminal B: representa un 10-20%. Solen ser RE positius, RP positius/negatius, HER2 positiu/ negatiu, Ki-67 alt. Dins dels tumors luminals aquests tenen pitjor pronòstic i per tant, es beneficien de QT i HT adjuvant.

Triple negatiu (TN): aquest grup representa 15-20%. No expressa RE, RP ni HER2 (80)(81). Malgrat aquest mateix perfil IHQ, es caracteritza per ser una malaltia molt heterogènia que es pot dividir en diferents subgrups en funció de la histopatologia (un tumor metaplàsic TN no es comporta igual que un carcinoma ductal infiltrant (CDI) TN)(82) i les característiques moleculars (83). A aquest nivell, s'han proposat diferents subclassificacions (84): basal-like, mesenquimal o *claudin-low*, immuno-enriquit i *luminal androgen receptor* (LAR). En general, el subtipus TN té unes característiques diferencials respecte a la resta de CM tant en l'epidemiologia com en l'evolució. Es diagnostica a edats més joves amb una major incidència en les pacients premenopàusiques; és més freqüent en dones afroamericanes i en portadores de mutació BRCA 1-2 (85). Té un fenotip agressiu amb major percentatge de recaigudes, sobretot entre els 2-3 primers anys (HR=2.6; p<0.0001), així com un major nombre de morts durant els 5 primers anys del diagnòstic (HR=3.2; p<0.0001) comparat amb els fenotips no càncer de mama triple negatiu (86) i disminueix a partir dels 5 anys del diagnòstic. Generalment, tenen millor resposta completa patològica (pCR) després de quimioteràpia neoadjuvant (QTNA) (pCR 30-40%) (87). A més, les pacients que obtenen pCR tenen un excel·lent pronòstic mentre que les pacients amb malaltia residual tenen una mala evolució (87). Les metàstasis són més freqüents a SNC i pulmó i en menor freqüència a nivell hepàtic i ossi (88).

HER2 positiu: representa el 20-25%. S'associa a un pitjor pronòstic respecte els subtipus luminals (89) i són tributaris d'un tractament diana específic. Abans de les teràpies antiHER2, eren els subtipus de pitjor pronòstic amb freqüents recaigudes i alt percentatge de metàstasis visceral i a SNC (90) (91).

	RE	RP	HER2	KI-67
LUMINAL A	Positiu	Positiu	Negatiu	Baix ($\leq 14\%$)
LUMINAL B	Positiu	Negatiu o baix	Positiu o negatiu	Alt ($\geq 15\%$)
HER2	Negatiu	Negatiu	Positiu	Alt ($\geq 15\%$)
TRIPLE NEGATIU	Negatiu	Negatiu	Negatiu	Alt ($\geq 15\%$)

Taula 2. Classificació IHQ. Creació de l'autora.

1.1.3- Tractament

Tractament locoregional del càncer de mama precoç

El CM és una malaltia que es beneficia de tractament local (cirurgia i radioteràpia (RT)) i sistèmic (QT, HT i/o teràpies dirigides).

Tumorectomia

És la tècnica quirúrgica en la que s'extirpa només el tumor i una àrea petita de teixit sa peritumoral. A la Fig. 5 es representa aquesta tècnica.

No va ser fins al 1973 quan es va iniciar un estudi a l'*Institut de tumori* de Milà que comparava la mastectomia vs. tumorectomia seguit de RT. Després de 20 anys de seguiment, al 2002 es van publicar els resultats que van demostrar que la SG als 2 grups era equiparable (92). Aquest estudi, junt amb el que va publicar Fisher i col. (93) va demostrar que la mastectomia i la tumorectomia seguida de RT eren tractaments equivalents.

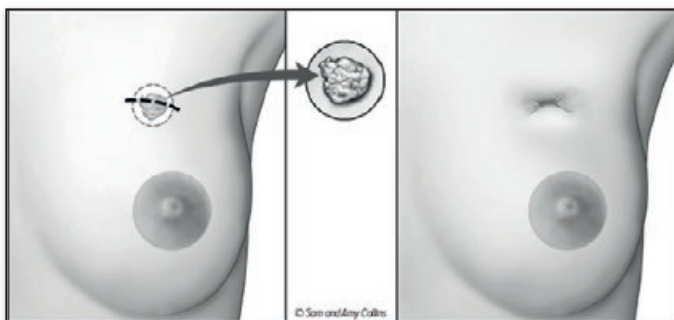


Fig. 5. Tumorectomia (94).

Mastectomia

És la tècnica quirúrgica que es basa en l'exèresi total de la mama. La mastectomia radical o tipus *Halsted* (95) (amb exèresi del pectoral major i menor i buidament axil·lar) a dia d'avui no es realitza per la seva morbiditat. Actualment hi ha diferents tipus de mastectomia que expliquem a continuació.

Mastectomia radical modificada (MRM): exèresi de la mama i la fàscia del pectoral major subjacent així com els nivells axil·lars I i II. És equivalent a la mastectomia radical *Halsted* en termes de supervivència però amb menor morbiditat (96). A la Fig.6 es representa aquesta tècnica.

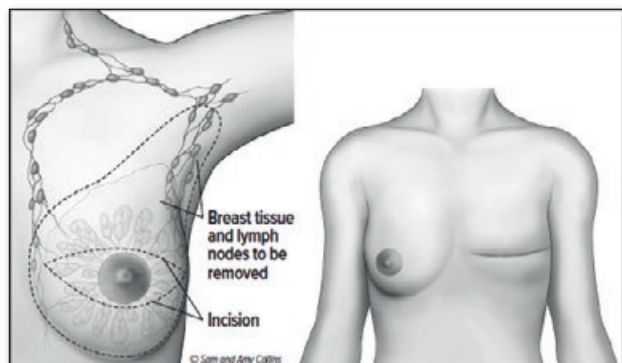


Fig. 6. MRM (94).

Mastectomia simple: exèresi de la mama amb preservació del múscul pectoral i aixella.

Mastectomia estalviadora de pell: exèresi de la mama però es conserva la majoria de la pell a través d'una incisió circular al voltant del complex areola-mugró (CAM) amb extensió lateral si és necessari accedir a l'aixella. El procediment de reconstrucció es pot fer en el mateix moment. És una cirurgia segura i acceptable en el carcinoma *in situ* i en el carcinoma invasiu estadis I-III (97)(98). Aquesta tècnica està contraindicada en el càncer de mama inflamatori degut a la invasió tumoral dels vasos limfàtics epidèrmics presents en aquests tipus de tumor.

Mastectomia conservadora del CAM: preserva dermis i epidermis del mugró i extirpa els conductes majors. És una bona opció per realitzar mastectomies profilàctiques amb reconstrucció immediata. Està contraindicada en el CM inflamatori, retracció del mugró, afectació clínica del CAM, malaltia de Paget, telorràgia o multicentricitat (99).

Biòpsia selectiva del gangli sentinella

Es defineix gangli sentinella (GS) com el primer gangli que rep el drenatge limfàtic d'un tumor en la mama. A la Fig.7 es representen tots el nivells ganglionars a on drena el teixit mamari.

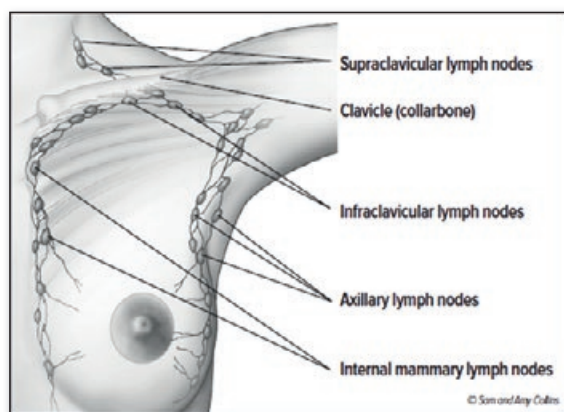


Fig. 7. Drenatge limfàtic de la mama (94).

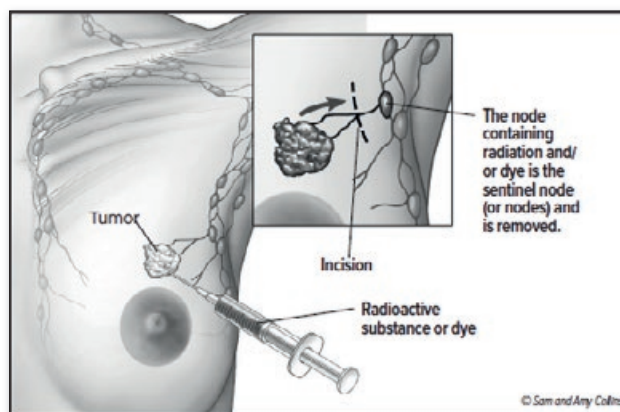


Fig. 8. Biòpsia selectiva del gangli sentinella (94).

La biòpsia del GS (BGS) és la tècnica estàndard d'estadificació ganglionar avui en dia en les pacients amb CM sense ganglis clínics ni radiològics sospitosos (Fig. 8) (100). Aquest GS es detecta per injecció d'un traçador radioactiu o colorant blau en el tumor.

La BGS té menys morbiditat que la limfadenectomia (LA): ha disminuït el risc de limfedema que ha passat del 19.9% a un 5.6% i que representa la principal complicació de la cirurgia de la regió axil·lar (101).

En pacients amb tres o més ganglis afectats, es recomana la LA de forma immediata o diferida (102). Així mateix la BGS està contraindicada en els ganglis clínicament sospitosos o amb citologia positiva i en el CM inflamatori (T4d) (102).

Limfadenectomia

La LA és la dissecció dels ganglis axil·lars dels nivells I i II (Fig. 9); diversos estudis retrospectius suggereixen que una LA és suficient per fer un estadiatge a partir de l'exèresi de 10 ganglis (103)(104)(105). Per tant, la LA està indicada en pacients amb ganglis axil·lars positius clínicament i/o amb PAAF positiva i, com hem dit, en alguns casos amb BGS positiva.

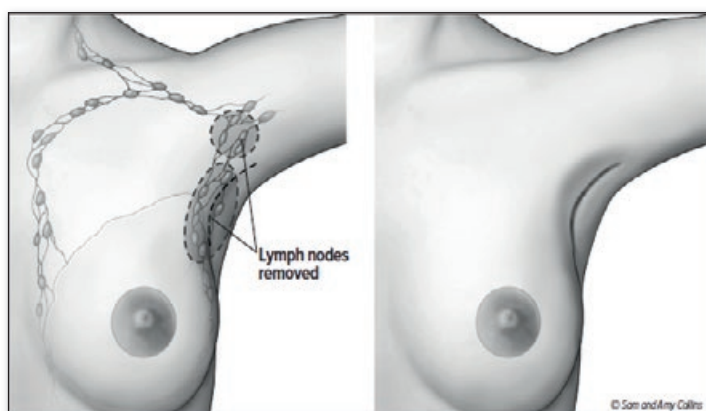


Fig. 9. Limfadenectomia (94).

A la Fig. 10 es representa l'anatomia axil·lar i els seus nivells.

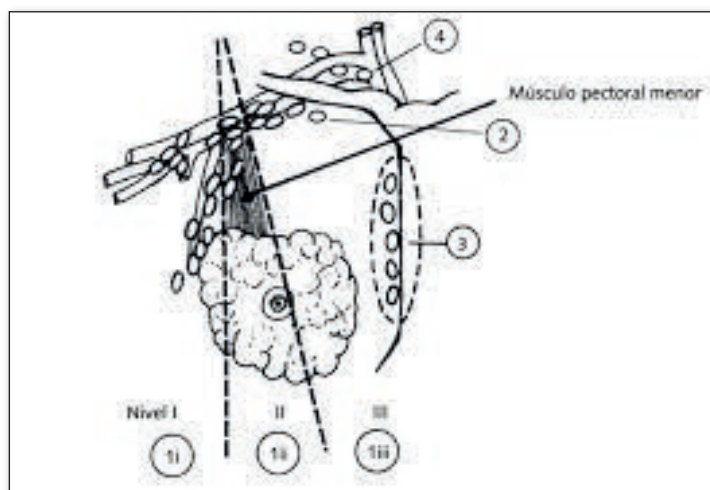


Fig. 10. Nivells ganglionars axil·lars (106).

Radioteràpia

L'objectiu de la RT adjuvant és eliminar qualsevol dipòsit tumoral que hagi quedat en la mama després de la cirurgia (conservadora o radical) que pugui tenir un impacte en la recaiguda locoregional i en la supervivència càncer específica i global com s'ha demostrat al meta-anàlisi del grup *Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group* (EBCTCG) (107). Els autors van incloure més de 10.000 pacients de 17 assajos clínics; als 10 anys es va observar gairebé un 50% de reducció del risc de qualsevol recaiguda en el grup de CC i RT vs. CC sola (19.3% vs. 35%, HR, 0.52; IC 95%, 0.48-0.56) i reducció del risc absolut del 15.7% (IC 95%,

13.7-17.7). També va haver-hi una reducció del risc de mort per CM als 15 anys del 21.4% vs. 25.2%, amb una reducció absoluta del 3.8% (IC 95%, 1.6-6.0).

Radioteràpia convencional: la dosi i fraccionament estàndard de RT és tractar tota la mama a 1.8-2 Gy/dia en 4.5-5 setmanes fins 45-50Gy (108)(109). En molts pacients, després de la irradiació de la mama s'aplica una sobreimpressió o *boost* (10-16 Gy) sobre el llit quirúrgic per augmentar la dosi en aquesta zona i reduir així el risc de recaiguda local.

Radioteràpia hipofraccionada: es basa en irradiar la mama a major dosi al dia en un menor temps total (fraccionament de 2,67 Gy/fracció/dia, cinc dies per setmana, tres setmanes, fins a una dosi de 40,05 Gy en 15 fraccions). Els resultats dels estudis en pacients seleccionades amb CM són iguals al fraccionament estàndard pel que fa a control local i supervivència de la malaltia (110)(111). Tenint en compte les guies de la ASTRO (112) s'ha d'administrar RT hipofraccionada en els casos següents:

- pacients diagnosticades de CM que s'ha realitzat CC
- estadis I-II
- edat \geq 50
- pacients que no requereixen tractament d'àrees ganglionars
- distribució homogènia de les dosis de RT entre 93%-107% de la dosi prescrita
- grau histològic I-II (no grau III)
- marges negatius
- hipofraccionament amb *boost* integrat: dosis d'1,8/1,3 en 28 fraccions

El resultat cosmètic és equivalent al tractament convencional i s'associa a millor tolerància i menor toxicitat aguda i tardana.

Irradiació parcial accelerada de la mama: s'irradia una part de la mama amb un marge de seguretat, augmentant la dosi i disminuint el temps total de tractament. La tolerància és molt bona i té menors efectes secundaris a curt/ llarg plaç que la RT convencional (113)(114). Les indicacions per aquesta tècnica són: dones > 50 anys, postmenopàusiques, CM unifocal i unicèntric, RH positius i HER2 negatiu, N0, BRCA 1 i 2 negatiu, diàmetre tumoral \leq 2.5 cm, no tributàries a QT adjuvant i histologia no lobel·lar (114).

Hi ha diferents tipus: RT intraoperatòria amb electrons, amb fotons, braquiteràpia intraoperatòria, braquiteràpia intersticial d'alta o baixa taxa de dosi, radioteràpia d'intensitat modulada o protons. Cada tècnica té les seves peculiaritats i es desenvolupa de forma diferent. En els casos de RT intraoperatòria s'afegeix el benefici de la realització del tractament en un únic dia.

Radioteràpia postquimioteràpia neoadjuvant: Indicada en estadis III independentment de la resposta a QTNA. A l'estadi II s'avaluen els factors de risc inicials i la resposta a QTNA. Cal dir que tenim dades retrospectives d'estudis que ens indiquen que alguns pacients que aconseguen una pCR en estadis localment avançats tenen poc risc de recaiguda locoregional després de mastectomia (115)(116)(117) (118)(119).

La toxicitat de la RT es relaciona amb les dosis que reben els anomenats "òrgans de risc" (la pell i la mama contralateral). La RT actual utilitza tècniques que aconseguen disminuir la dosi en aquestes localitzacions de manera que la toxicitat tant aguda com a llarg termini ha disminuït en els últims anys (120)(121).

Les **contraindicacions** de la RT poden ser contraindicacions absolutes o relatives.

Les absolutes són: malaltia multicèntrica, tumor molt gran a la mama que comprometi el resultat cosmètic de la CC, microcalcificacions disperses, carcinoma inflamatori o embaràs.

Les contraindicacions relatives són: malalties del teixit connectiu que puguin presentar complicacions dèrmiques a l'exposar la pacient a RT, com ara l'esclerodèrmia o la síndrome de *Sjögren*, per la fragilitat cutània. El lupus eritematós sistèmic i l'artritis reumatoide poden també augmentar el risc de toxicitat cutània pel que s'ha d'individualitzar cada cas (122).

Tractament sistèmic del càncer de mama localment avançat

Prèviament hem comentat que el cribratge en el CM ens ajuda a diagnosticar les pacients en estadis inicials de la malaltia; no obstant, altres es diagnostiquen guiades per la presència de signes o símptomes de sospita sovint detectats per la mateixa pacient. El símptoma més comú és una lesió palpable a la mama (aparició d'un nòdul o massa de consistència dura, una assimetria mamària, un eccema de nova aparició, secreció o retracció del mugró, engruïment o ulceració cutània) o una adenopatia a nivell axil·lar i/o supraclavicular. En aquests tumors localment avançats (CMLA) s'ha de realitzar un tractament sistèmic neoadjuvant; és a dir, abans de la cirurgia i aquest es pot realitzar amb HT o QT neoadjuvant +/- tractament dirigit.

Hormonoteràpia neoadjuvant

El tractament hormonal neoadjuvant està indicat en aquelles pacients postmenopàusiques diagnosticades de CMLA subtipus luminal que no tenen indicació de QTNA ja sigui per edat, fragilitat o comorbiditat important. El seu objectiu, a l'igual que la quimioteràpia, és reduir el diàmetre tumoral i així permetre una CC.

Alguns assajos clínics han comparat l'ús de tractament hormonal neoadjuvant amb l'ús de QTNA en pacients postmenopàusiques i han obtingut resultats similars entre les dues estratègies en quant a taxa de resposta i CC (Taula 3).

ESTUDI	TRACTAMENT	RESPOSTA CLÍNICA	P	CC	P
Semiglazov V.V i col. (123).	QT (doxorubicina + paclitaxel) x 4 cicles vs. HT (anastrozol o exemestà) x 3 mesos	63.6% vs. 64.5%	p> 0.5	24% vs. 33%	p= 0.058
Alba E. i col. (124).	QT (epirubicina + ciclofosfamida x 4 cicles seguit docetaxel x 4 cicles) vs. HT (exemestà) x 24 setmanes	48% vs. 66%	p= 0.075	56% vs. 47%	p= 0.23

Taula 3. Estudis d'hormonoteràpia neoadjuvant. QT: quimioteràpia; HT: hormonoteràpia.

Les taxes de pCR en els tumors luminals són baixes després de qualsevol tractament sistèmic neoadjuvant, ja sigui QT o HT, i en general es considera que l'impacte pronòstic d'aquesta taxa de pCR és menor que en els tumors no luminals (125). No obstant, s'ha aconseguit, a partir dels resultats de l'estudi P024 (126), elaborar un model predictiu i pronòstic en funció del grau de resposta a HT neoadjuvant. S'anomena *Preoperative Endocrine Pronostic Index score* o *PEPI score* i incorpora variables patològiques comuns (tamany del tumor, estadi ganglionar) i biomarcadors de resposta al tractament (Ki67, RE) amb els que estableix tres grups de risc (Taula 4). Així, les pacients amb un *PEPI score* baix presenten un baix risc de recaiguda i no obtenen cap benefici amb l'administració de quimioteràpia en adjuvència.

FACTORS QUIRÚRGICS	HR SLR	PEPI SCORE
TAMANY TUMORAL		
T1/T2	-	0
T3/T4	2.8	3
ESTAT GANGLIONAR		
Negatiu	-	0
Positiu	3.2	3
NIVELL KI-67		
0-2.7%	-	0
>2.7-7.3%	1.3	1
>7.3-19.7%	1.7	1
>19.7-53.1%	2.2	2
>53.1%	2.9	3
ESTAT RE		
Negatiu	2.8	3
Positiu	0	0

Taula 4. PEPI score (126).

En les pacients postmenopàusiques, un inhibidor de l'aromatasa és preferible a tamoxifè (127). Al 2016, es va publicar un meta-anàlisi de 20 estudis prospectius amb 3.490 pacients que avalua el percentatge de resposta clínica i el percentatge de CC en les pacients amb CM RE positius amb tractament hormonal neoadjuvant (128). Es va observar que els inhibidors de l'aromatasa (IA) eren més efectius (millor percentatge de resposta clínica i millor percentatge de CC) respecte tamoxifè. També va suggerir que els percentatges de respostes i de CC amb IA eren comparables amb els observats en la combinació de QTNA. L'estudi ACOSOG Z1031 es va dissenyar per contestar a la pregunta si hi havia un IA superior als altres en el tractament neoadjuvant. En aquest fase II, 337 pacients diagnosticades de CM RE positius es van randomitzar a rebre tractament hormonal neoadjuvant amb anastrozol, letrozol o exemestà. L'objectiu primari era resposta clínica i els resultats van demostrar que no hi havia diferències en termes de cirurgia i reducció del Ki-67 en les 3 branques (129).

En quant a la duració del tractament, 3- 4 mesos ha estat la duració estàndard de la majoria d'estudis, però sembla que hi ha consens de que aquesta duració és insuficient per aconseguir màxima resposta tumoral. Estudis no randomitzats suggereixen que alguns tumors es poden beneficiar de major duració de tractament hormonal neoadjuvant (6-12 mesos)(130)(131)(132).

Quimioteràpia neoadjuvant

La QTNA es va iniciar a la dècada dels anys '80 en les pacients diagnosticades de CMLA amb l'objectiu de convertir els tumors inoperables en operables (133). Actualment, els objectius són a més d'aconseguir una CC, controlar de forma precoç la malaltia micrometastàsica, disminuir el tamany tumoral (*downstaging*), assolir una alta taxa de pCR i testar la quimiosensibilitat del tumor *in vivo* (134).

Des del seu inici, es va estudiar si realitzar un tractament neoadjuvant (NA) era inferior a l'adjuvant (A). El meta-anàlisi de Mauri i col. (135) va avaluar 9 estudis aleatoritzats amb més de 3.500 pacients que comparava les dues estratègies: NA vs. A; no va detectar diferències ni estadística ni clínicament significatives entre els dos

abordatges en termes de mort, progressió de malaltia o recurrència a distància, si bé la teràpia NA s'associava a un augment en el risc de recaigudes locoregionals especialment en aquelles pacients tractades amb NA que van rebre RT sense cirurgia com a teràpia local. Posteriorment, els estudis NSABP B18 i B27 van recolzar l'equivalència entre les dues estratègies en termes de SLM i SG (136). Més recentment s'han publicat les dades del meta-anàlisi del EBCTCG amb més de 4.500 pacients incloses en 10 assajos clínics (137) reclutades entre els anys 1983 i 2002. El seguiment a llarg plaç confirma que no hi ha diferències significatives en quant a recaigudes a distància, mortalitat per CM o per qualsevol causa entre ambdues modalitats de tractament. El tractament NA obté una major taxa de CC encara que a expenses d'un augment de risc de recaiguda local en aquestes pacients. Aquests resultats han generat controvèrsia donada l'expansió de l'ús de la teràpia NA en els últims anys, però s'han d'interpretar amb cautela ja que provenen d'estudis antics sense els avenços que s'han produït en el diagnòstic, estadificació, tractament local mitjançant radioteràpia i les tècniques quirúrgiques del CM en els últims anys (138). A la Taula 5 estan resumits aquests estudis.

META-ANÀLISI	ESTUDIS	N	NA vs. A
Mauri i col (135).	9	> 3.500	SG (HR, 1; IC 95%, 0.90-1.12) SLM (HR, 0.99; IC 95%, 0.91-1.07) Recaiguda locoregional (HR, 1.22; IC 95%, 1.04 -1.43)
EBCTCG (137).	10	> 4.500	SG (HR, 1.06; IC 95%, 0.95-1.18) SLM (HR, 1.02; IC 95%, 0.92-1.14) Recaiguda locoregional (HR, 1,37; IC 95%, 1.17-1.61)

Taula 5. Meta-anàlisis en neoadjuvència.

Definició de resposta completa patològica

La definició de pCR no ha estat ben definida fins fa uns anys, d'aquí la gran dificultat en comparar els estudis. Actualment, es defineix com l'absència de tumor invasiu a la mama i l'aixella (ypT0/is ypN0); per tant, la presència de tumor *in situ* també es classifica com pCR (139).

A la Taula 6 estan resumits els primers estudis amb QTNA. NSABP-B18 i B-27 (140) van demostrar, per primera vegada, una associació entre pCR i benefici en supervivència a llarg plaç. El primer, l'estudi NSABPB-18 publicat al 1998, va ser el primer assaig que comparava QTNA i adjuvant utilitzant el mateix esquema de QT. Un total de 1.523 pacients amb CM operable es van randomitzar a 4 cicles de doxorubicina i ciclofosfamida (AC) abans (N=747) o després de cirurgia (n=759). El diàmetre tumoral es va reduir a menys de la meitat en el 80% de les pacients, però no hi havia diferències en SLM, supervivència lliure de malaltia a distància (SLMD) ni en SG (p=0.99, 0.70 i 0.83, respectivament). Al segon estudi, NSABP-27 les pacients es randomitzaven en 3 grups: ACx 4 seguit per cirurgia, ACx4 seguit de taxans per 4 cicles i cirurgia i, el tercer grup era ACx 4 seguit de cirurgia i posteriorment taxans per 4 cicles. L'addició de taxans a AC no va influir de manera significativa en la SLM ni SG; no obstant, al comparar el grup d'AC seguit de cirurgia vs. AC seguit de taxans i cirurgia, augmentava el percentatge de pCR (13% vs. 26%, p<0.0001). Els pacients que aconseguen pCR tenien millor SLM i SG de manera significativa. Posteriorment, es va validar la seva eficàcia en un llarg nombre d'estudis de cohorts i meta-anàlisi (141). Aquest últim incloïa 16 estudis amb 3.776 pacients des de 1985 a 2010; l'odds ratio (OR) que estimava l'associació de SG amb pCR era de 3.44 (IC 95%, 2.45-4.84) i per SLM 3.41 (IC 95%, 2.54-4.58).

ESTUDI	TRACTAMENT	N	OBJECTIUS	HR	P
NSABP-B18	ACx4→C C→ACx4	1.523	SG SLM SLMD	0.99 0.93 0.98	0.83 0.99 0.70
NSABP-B27	ACx4→C ACx4→Tx4→C ACx4→C→Tx4	2.344	SG SLM SLMD	0.93 0.93 0.83	0.46 0.29 0.04

Taula 6. Primers estudis en neoadjuvència (140).

En base a aquests resultats, la pCR s'ha utilitzat com a objectiu principal en molts estudis de NA i és un objectiu subrogat; és a dir, indirecte, per a predir el benefici per la SLM i SG (142)(143) (144)(145).

pCR en funció del subtipus histològic

Al 2014 *Cortazar i col.* van publicar un meta-anàlisi d'estudis en neoadjuvència amb dades de gairebé 12.000 pacients on es va analitzar el valor predictiu d'aconseguir una pCR en funció dels diferents subtipus immunohistoquímics de CM (139). L'anàlisi va demostrar que la pCR s'associava amb millor SLM i SG sobretot en tumors TN tractats amb QTNA (SLM: HR, 0.24; IC 95%, 0.18-0.33 i SG: HR, 0.16; IC 95%, 0.11-0.25) i tumors HER2 positiu RH negatiu tractats amb trastuzumab i QTNA (SLM: HR, 0.15; IC 95%, 0.09-0.27 i SG: HR, 0.08; IC 95%, 0.03-0.22). Per altres subtipus, es va observar la mateixa tendència, encara que no es va aconseguir una significació estadística. Així doncs, es va confirmar la pCR com a objectiu subrogat per SLM i SG en tumors TN i HER2 positiu (146).

Mètodes d'avaluació de resposta

Les indicacions dels tractaments oncològics (ja siguin pre o post-cirurgia) es basen en els informes d'anatomia patològica de les peces tumorals que proporcionen informació predictiva i pronòstica, pel que un anàlisi i descripció acurat és molt important.

Per tal d'avaluar la resposta al tractament neoadjuvant, s'han creat sistemes de classificació amb diferents definicions de pCR (Taula 7).

SISTEMA	LA CLASSIFICACIÓ DE pCR INCLOU LA RESPOSTA A MAMA O A MAMA I AIXELLA?	ES PERMET CD <i>IN SITU</i> RESIDUAL CLASSIFICAR-SE COM pCR?
Regressió de Sinn (147)	Ambdós	No
NSABP-B18 (148)	Només mama	Sí
Sataloff i col. (149).	Ambdós	Sí
Chevallier i col. (150)	Ambdós	No
Pinder i col. (151)	Ambdós	Sí
Residual Disease in Breast and Nodes (RDBN) (152)	Ambdós	Sí
Miller-Payne (153)	Mama	Sí
Residual Cancer Burden (RCB) (154)	Ambdós	Sí
AJCC ypTNM (74)	Ambdós	Sí

Taula 7. Sistemes de classificació per avaluar la resposta a QTNA.

Entre els més utilitzats destaquen el mètode de *Miller i Payne (MiP)* (153) i el de *Symmans o Residual Cancer Burden (RCB)* (154).

Mètode Miller i Payne

La resposta patològica està estratificada segons la proporció entre tumor viable i els canvis post QT; la resposta ganglionar s'avalua per separat. És necessària la biòpsia prequimioteràpia per poder-la comparar amb la peça quirúrgica.

Els canvis atribuïbles a la QT inclouen fibrosi, hialinització de l'estroma, ectàsia ductal, infiltrat inflamatori histiocitari especialment quan hi ha canvis xantomatosos, necrosi i alteracions citològiques en cèl·lules tumorals i no tumorals.

El grau de resposta patològica local s'estableix segons els següents paràmetres:

- G1: mínims canvis cel·lulars sense reducció significativa de la cel·lularitat tumoral invasiva.
- G2: disminució discreta de la cel·lularitat tumoral invasiva, inferior al 30% de la massa tumoral.
- G3: disminució significativa de la massa tumora invasiva, entre el 30 i el 90%, amb persistència exclusiva de focus microscòpics.
- G4: presència residual de focus microscòpics, amb reducció superior al 90%.
- G5: ausència de cèl·lules tumorals invasives, resposta patològica completa.

El grau de resposta patològica axil·lar és:

- A: ganglis limfàtics negatius, sense canvis atribuïbles a la quimioteràpia.
- B: ganglis limfàtics positius, sense canvis atribuïbles a la quimioteràpia.
- C: ganglis limfàtics positius, però amb evidència de resposta parcial.
- D: ganglis limfàtics negatius amb canvis postquimioteràpia.

Mètode Symmans o RCB

RCB és una variable contínua que avalua la resposta a la QTNA a la mama (tamany del llit tumoral i cel·lularitat residual) i als ganglis axil·lars (nombre de ganglis afectats i diàmetre màxim de l'afectació ganglionar) per predir la SLM. Aquests paràmetres s'inclouen en un algoritme matemàtic i fa una classificació en funció de la resposta patològica:

- RCB- classe 0: sense evidència de cel·lularitat residual.
- RCB- classe I: malaltia mínima residual.
- RCB- classe II: malaltia residual moderada.
- RCB- classe III: malaltia residual extensa.

Les classes 0 i I són les que presenten millor pronòstic i la classe III correspon a un tumor quimioresistent amb molt mal pronòstic com s'observa a la Fig.11. Aquest sistema no necessita la biòpsia pretractament.

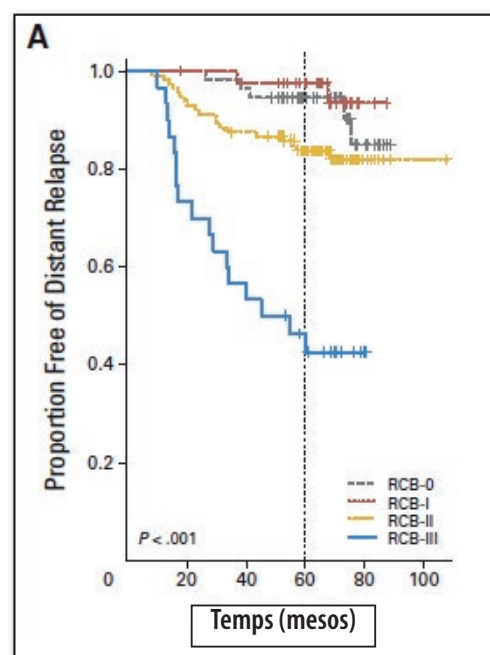


Fig. 11. Probabilitat de recaiguda a distància segons RCB-0, RCB-I, RCB-II, RCB-III (154).

El mètode MiP és més imprecís respecte al RCB, ja que el G3 representa la resposta patològica amb una reducció entre el 30 i el 90% en la mateixa categoria; a la classificació RCB el fet de considerar més variables (diàmetre del llit tumoral (determinat en mm en el seu diàmetre major i menor), percentatge de l'àrea global de cel·lularitat tumoral, percentatge de tumor que és *in situ* i el nombre de ganglis metastàsics amb el diàmetre en mm de la metastasi major) fa més difícil la seva utilització en la pràctica clínica habitual.

Tant el sistema de MiP com el RCB es correlacionen de forma significativa amb la SLM i SG.

Un grup de patòlegs americà, el *Breast International Group & North American Breast Cancer Group* (BIG-NABCG) va publicar unes guies amb l'objectiu d'estandarditzar la descripció, avaluació i anàlisi de les peces d'anatomia patològica postneoadjuvència que poguessin servir tant pels assajos clínics de QTNA (155)(156) com per a la pràctica diària. Recomanen que la valoració i interpretació post QTNA ha d'incloure informació sobre la pCR i malaltia residual segons es defineix al meta-anàlisi de la FDA (ypT0/is ypN0) (139).

Esquemes de QTNA en funció del perfil IHQ

- **Càncer de mama RH positiu HER2 negatiu o luminal like**

La QTNA basada en antraciclins i taxans, aconsegueix un baix percentatge de pCR (10-26%) (157) en comparació amb altres subtipus. Però, el subtipus luminal B *like*, RH positiu HER2 negatiu amb una alta expressió de Ki-67, augmenta la probabilitat de pCR (158)(159).

- **Càncer de mama RH positiu o negatiu HER2 positiu**

En aquest subtipus, afegir trastuzumab de forma concomitant a la QT tant en adjuvència como en estadis metastàsics ha demostrat un benefici en SG; és per aquest motiu, que també s'ha estudiat en neoadjuvència (160).

Trastuzumab

És un anticòs monoclonal dirigit contra el receptor HER2 que bloqueja les vies de senyalització HER2 i inhibeix el creixement cel·lular (Fig. 12). Dos estudis han demostrat el seu benefici tant en pCR com en SLM. El primer el va publicar *Buzdar* i col. (161) que comparava el mateix esquema de QTNA amb o sense trastuzumab i va demostrar una milloria significativa en el percentatge de pCR (65.2% vs. 26.3%, $p=0.02$). Més tard, l'estudi NOAH que també comparava QT amb antraciclins i taxans amb o sense trastuzumab va demostrar un increment en el percentatge de pCR (38% vs. 19%, $p=0.001$) i una milloria de la SLM (162); una actualització publicada al 2014 ha corroborat l'avantatge en pCR al concomitar el fàrmac antiHER2 amb quimioteràpia i la correlació amb SG (163).

Pertuzumab

És un anticòs monoclonal que s'uneix a HER2 i evita que aquest s'uneixi a HER3 pel que s'inhibeix la dimerització de HER2 i, finalment, el creixement cel·lular.

L'estudi NeoSphere (164) va avaluar el seu ús en neoadjuvència. Comparava 4 branques: docetaxel i trastuzumab, docetaxel i pertuzumab, docetaxel, trastuzumab i pertuzumab i pertuzumab i trastuzumab sense QT. Les pacients en tractament amb doble bloqueig (pertuzumab i trastuzumab) i docetaxel van obtenir major percentatge de pCR comparat amb trastuzumab i docetaxel (45.8% vs. 29%, $p=0.014$). A més, independentment del règim, les pacients amb tumors RH negatius van aconseguir un major percentatge de pCR respecte les RH positius (docetaxel i trastuzumab 36.8% vs. 20%, docetaxel i pertuzumab 30% vs. 17.4%, docetaxel, trastuzumab i pertuzumab 63.2% vs. 26% i pertuzumab i trastuzumab sense QT 27.3% vs. 5.9%).

Posteriorment s’han realitzat altres estudis en els que s’avaluen diferents esquemes de quimioteràpia en combinació amb pertuzumab i trastuzumab, com son Tryphaena (165) i Berenice (166), que han confirmat una taxa de resposta al voltant del 60% així com el no increment de cardiotoxicitat amb el doble bloqueig i diferents règims de quimioteràpia amb o sense antraciclins. A la Taula 8 queden resumides les característiques d’aquests tres estudis.

ESTUDI	N	Branca	pCR
NeoSphere (164)	417	DT	36.8%
		DTP x4	63.2%
		TP	27.3%
		DP	30%
Tryphaena (165)	223	FEC-TP → DTP	56%
		FEC → DTP	55%
		DCTP	64%
Berenice (166)	401	ddAC → PPT	61.8%
		FEC → PPT	60.7%

Taula 8. Estudis en neoadjuvència amb pertuzumab. DT: docetaxel + trastuzumab, DTP: docetaxel + trastuzumab + pertuzumab; TP: trastuzumab + pertuzumab; DP: docetaxel + pertuzumab; FEC: fluoruracil + epirubicina + ciclofosfamida; DCTP: docetaxel + trastuzumab + pertuzumab + carboplatí; ddAC: dosis denses doxorubicina + ciclofosfamida, PPT: paclitaxel + trastuzumab + pertuzumab.

Lapatinib

És un inhibidor de tirosina-quinasa d’EGFR i HER2. Igual que pertuzumab, degut a la seva activitat en pacients amb CM metastàtic HER2 positiu, s’ha avaluat en estadis inicials amb o sense trastuzumab.

A l’estudi NeoALTTO (167) s’administrava tractament antiHER2 (trastuzumab, lapatinib o trastuzumab més lapatinib) durant 6 setmanes seguit de 12 setmanes de la mateix teràpia antiHER2 combinada amb paclitaxel. El braç que va incloure tractament combinat amb trastuzumab i lapatinib es va associar a major percentatge de pCR. No obstant, altres estudis posteriors (NSABP-B 41, CALGB 40601) (168) (169) no han pogut confirmar el benefici d’aquesta combinació i, junt amb els resultats negatius de lapatinib adjuvant (170), fan que aquest inhibidor tirosina-quinasa no estigui indicat en el tractament del CM precoç HER2 positiu. A la Taula 9 hi ha un resum d’aquests estudis.

ESTUDI	N	Branca	pCR
NeoALTTO (167)	455	Lx6s → P+Lx12s	24.7% (IC 95%, 18.1-32.3)
		Tx6s → P+Tx12s	29.5% (IC 95%, 22.4-37.5%)
		L+Tx6s → P+L+Tx12s	51.3% (IC 95%, 43.1-59.5%)
NSABP-B41 (168)	529	ACx4 → P+Tx4	52.5% (IC 95%, 44.9-59.5)
		ACx4 → P+Lx4	53.2% (IC 95%, 45.4-60.3)
		ACx4P → P+T+Lx4	62% (IC 95%, 54.3-68.8)
CALGB 40601 (169)	305	P+T+L → C → AC+Tx12s	57% (IC 95%, 47-66)
		P+T → C → AC+Tx12s	45% (IC 95%, 36-54)
		P+L → C → AC+Tx12s	30% (IC 95%, 19-42)

Taula 9. Estudis en neoadjuvència amb lapatinib. L: lapatinib; T: trastuzumab; P: paclitaxel; AC: doxorubicina i ciclofosfamida; C: cirurgia; s: setmanes.

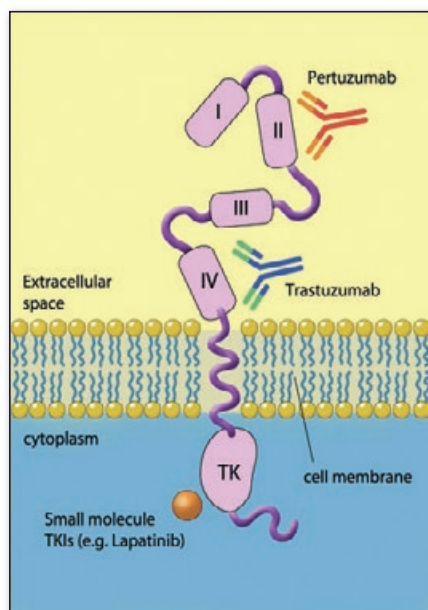


Fig. 12. El receptor HER2 i els llocs d'unió de trastuzumab, pertuzumab i els inhibidors de petites mol·lècules (p.ex. lapatinib) (171).

- **Càncer de mama triple negatiu**

- Nab-paclitaxel*

Paclitaxel és un citostàtic que s'obté de l'escorça del teix i que la seva diana és la disrupció dels microtúbuls del fus cromàtic i degut a la seva baixa hidrosolubilitat està formulat amb el dissolvent Cremophor® el que pot produir reaccions d'hipersensibilitat (172). Nab-paclitaxel està unit a nanopartícules d'albumina, que augmenta la seva hidrosolubilitat i no necessita dissolvent, minimitzant així aquestes toxicitats i evitant el tractament profilàctic amb corticoides i antihistamínics (172)(173) (Fig. 13). Comparat amb paclitaxel, nab-paclitaxel aconsegueix una concentració màxima 10 vegades major (174) i es transporta més ràpid entre les membranes cel·lulars endotelials que permet una major penetració als teixits i menor eliminació de paclitaxel; models preclínic, han demostrat un augment del 33% de la concentració del fàrmac intratumoral (175).

En CM metastàtic, la comparació de nab-paclitaxel (260mg/m² cada 3 setmanes) vs. paclitaxel (175mg/m² cada 3 setmanes) ha demostrat un augment en el percentatge de resposta global (33 vs. 19%; p=0.001) i temps a la progressió (23 vs. 16.9 setmanes, HR=0.75; p=0.006) (176).

En diferents estudis fase II i fase III, s'ha demostrat que nab-paclitaxel és més efectiu que paclitaxel i docetaxel trisetmanal (però no paclitaxel setmanal), en primera i segona línia en termes de percentatge de resposta i SLM (177).

Posteriorment, s'ha estudiat el seu paper en l'escenari neoadjuvant. L'estudi GeparSepto (178) és un estudi fase III que randomitza 1.229 dones amb CMLA a rebre QTNA amb paclitaxel setmanal x 4 cicles seguit d'epirubicina i ciclofosfamida (EC) x 4 cicles vs. nab-paclitaxel seguit d'EC. Trastuzumab s'afegeix als tumors HER2 positius. Els resultats demostren un increment de la pCR del 38.4% vs. 29% (p<0.001). Entre les 276 pacients amb tumors TN aquest benefici és més notable, amb pCR del 48% vs. el 25% (p=0,00027).

Nab-paclitaxel en monoteràpia està indicat en el tractament del CM metastàtic quan ha fracassat el tractament en primera línia i quan no està indicada la teràpia estàndard amb antraciclins. En primera línia de CMTN metastàsica està indicat en combinació amb atezolizumab com explicarem més endavant (179).

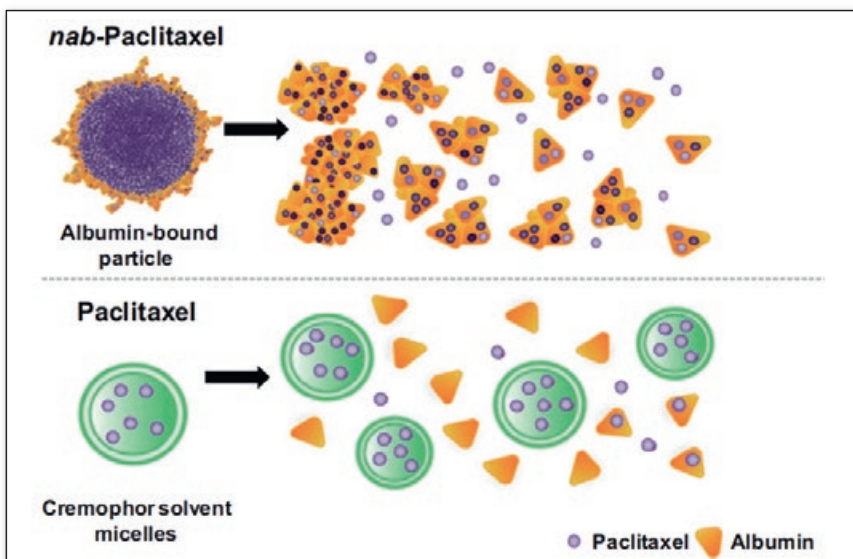


Fig. 13. Diferències en l'alliberament de nab-paclitaxel i paclitaxel a la circulació (180).

Sals de platí

Les sals de platí trenquen la doble cadena de l'ADN i aquest és el seu mecanisme citostàtic. Aquestes ruptures s'han de reparar per mecanismes de recombinació homòloga en les que participen els gens *BRCA1* i *BRCA2* que són gens reparadors. El racional per utilitzar platins en CMTN es basa en que fins a un 10-20% d'aquests tumors s'associen a una mutació germinal en el *BRCA1* ó *BRCA2* (181) i que en un percentatge addicional de tumors TN, fins a un 50-60%, aquest mecanisme pot estar malmès per metilació del promotor, mutació germinal o somàtica d'altres gens, el que s'anomena fenotip BRCAness. Serien doncs tumors que no tenen mutacions de la línia germinal de *BRCA1* ó *BRCA2* però que mostren les característiques de la deficiència de la via BRCA (182)(183)(184). L'interès per aquest tractament es va iniciar a l'objectivar taxes de pCR del 21% amb cisplatí (CDDP) en monoteràpia (185) i fins a un 60% en pacients amb mutacions en *BRCA1* ó *BRCA2* (186).

Diferents estudis fase II han avaluat l'addició de carboplatí a QTNA en CMTN; no obstant, els 2 estudis més grans que mostren un augment de pCR amb aquests esquemes tenen resultats controvertits en termes de llarg plaç (Taula 10). El primer és l'estudi CALGB 40603 que avaluava el benefici d'afegir carboplatí neoadjuvant i/o bevacizumab, un antiangiogènec, a paclitaxel setmanal seguit de dosis denses d'AC cada 2 setmanes per 4 cicles en 443 dones amb estadis II i III CMTN no inflamatori. Aquest estudi tenia 3 branques experimentals: bevacizumab, carboplatí i els 2 agents, que s'administraven concomitantment amb paclitaxel. L'addició de carboplatí augmentava la pCR a la mama (60% vs. 46%; $p=0.0018$) i la pCR a la mama i aixella (54% vs. 41%; $p=0.0029$) (187). El segon, l'estudi GeparSixto amb 595 pacients que rebien 18 cicles de paclitaxel, doxorubicina liposomal no pegilada setmanal i bevacizumab cada 3 setmanes i la branca experimental també rebia carboplatí setmanal. A la Taula 10 es mostren els 2 estudis resumits. L'addició d'aquest últim, augmentava el percentatge de pCR (53% vs. 37%; $p=0.005$) (188). En canvi, no es va demostrar un augment en la SLM ni SG a l'estudi CALGB 40603 i sí un augment de la SLM als 3 anys (85.8% vs. 76.1%; HR=0.56, IC 95% 0.33-0.96) a l'estudi GeparSixto. Els 2 estudis tenien similars mitjanes de seguiment (39 vs. 35 mesos). Aquests resultats es podien explicar per les diferències en els dissenys dels estudis que incloïen variacions a l'esquema i dosis de carboplatí així com variacions en l'estàndard de QT: p. ex. un agent alcalí a l'estudi CALGB 40603 i no a l'estudi GeparSixto. A més, en aquest últim les pacients tenien millor pronòstic doncs hi havia un major percentatge de ganglis negatius. Els 2 estudis van demostrar més toxicitat en les pacients que van rebre carboplatí.

Un recent meta-anàlisi reforça aquests resultats i mostra que l'addició de carboplatí a QTN s'associa a una millor pCR, estadísticament significativa (189). No obstant, aquest meta-anàlisi només avalua els esquemes de QT que contenen taxans.

El 25% dels tumors TN presenten mutació a BRCA que podria ser un biomarcador predictiu de resposta a platins. De fet, al 2019 es va publicar un meta-anàlisi que mostra que l'addició de platí a quimioteràpia en les pacients amb CMTN BRCA mutades augmenta la pCR al comparar-les amb les no mutades (190).

	CALBG40603 (187)	GeparSixto (188)
cTcN	cT1: 11, cN0: 42	cT1: 26, cN0: 60
Esquema QT	Seqüencial	Concomitant
Antraciclina	240 mg x 12 setmanes	360 mg x 18 setmanes
Taxà	960 mg x 12 setmanes	1.440 mg x 18 setmanes
Bevacizumab	Una branca	Tots els pacients
Carboplatí dosi/esquema	AUC 6/3 setmanes	AUC 2 ó 1.5/setmanal

	CALGB 40603	GeparSixto
SLM als 3 anys branca carboplatí (%)	76.5	85.8
SLM als 3 anys branca control (%)	71.6	76.1
Benefici carboplatí SLM (%)	4.9	9.7
SLM (HR)	0.84	0.56
P	p>0.5	0.0325

Taula 10. Estudis en neoadjuvència amb platí.

Recentment s'ha presentat al Congrés Europeu (ESMO) 2021 l'actualització de l'estudi BrightNess (191) publicat a 2018 que tenia com objectiu principal valorar el benefici d'afegir velaparib (un inhibidor de PARP) a la QTNA en 634 dones amb CMTN estadis II/III. Amb una mitjana de 4.5 anys de seguiment es confirma que només l'addició de carboplatí a paclitaxel impacta en la pCR i SLM (carboplatí + paclitaxel + velaparib s'associa a augment SLM respecte a paclitaxel en monoteràpia: HR: 0.63, p=0.016) però la triple combinació no és superior a carboplatí + paclitaxel (HR: 1.12, p=0.620). El benefici s'observa sense incrementar la incidència de síndromes mielodisplàsics o altres tumors com leucèmia aguda, leucèmia mieloide crònica o càncer de pulmó (192).

Podem concloure doncs que les sals de platí són un bon fàrmac en les pacients d'alt risc (p.ex. ganglis positius) amb CMTN en QTNA ja que augmenten la pCR però no s'han d'utilitzar de rutina ja que produeixen més toxicitat i no es coneix si augmenten la SLM o SG, però s'han de tenir en compte en el subgrup de pacients amb mutació BRCA.

Immunoteràpia

Atezolizumab, un inhibidor del lligant de mort cel·lular programada (PD-L1), actualment està aprovat per la FDA en combinació amb nab-paclitaxel pel tractament de les pacients amb CMTN metastàtic que expressen PD-L1(193). A l'escenari neoadjuvant, en canvi, el resultat ha estat negatiu; l'assaig NeoTRIPP va avaluar 280 dones amb CMTN localment avançat o inflamatori d'alt risc a rebre carboplatí i nab-paclitaxel amb o sense atezolizumab sense objectivar diferències en la pCR (194). Per contra, a l'estudi KEYNOTE- 522 es va

incrementar la pCR de manera estadísticament significativa (64.8% vs. 51.2%; $p=0.0005$). Aquest estudi fase III randomitzava 1174 pacients amb CMTN la majoria estadi II (75%) a QT + pembrolizumab (un inhibidor de PD-L1) vs. QT + placebo. L'esquema de QT era carboplatí i palcitaxel (setmanal o trisetmanal) i doxorubicina o epirubicina amb ciclofosfamida. El tractament adjuvant consistia en 9 cicles de pembrolizumab o placebo. Un 48% de les pacients no presentaven afectació ganglionar axil·lar i un 81-83% tenien PD-L1 positiu. El benefici es va observar independentment de l'estat de PD-L1 (195).

Recentment s'ha tancat el reclutament de l'assaig clínic fase III Gepardouze que randomitza els CMTN a QTNA +/- atezolizumab (196).

Podem concloure doncs, que els tumors TN és més probable que es beneficiïn de tractament amb immunoteràpia per la seva alta immunogenicitat, alt enriquiment pels limfòcits infiltrants de tumor (TILs) i alts nivells d'expressió de PD-L1.

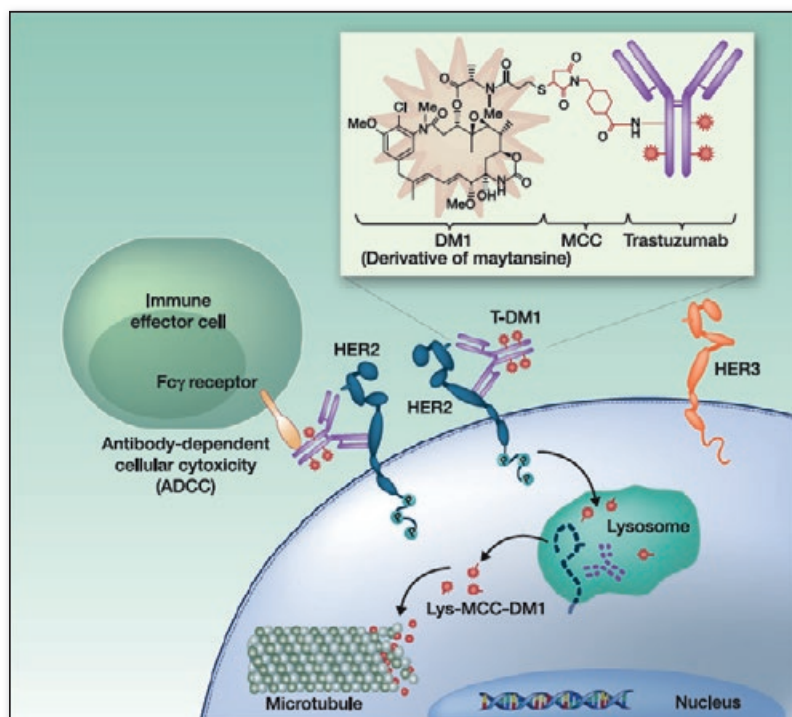
Esquemes de quimioteràpia adjuvant en funció del subtipus i la malaltia residual

A *San Antonio Breast Cancer Symposium* (SABCS) de 2018 es va presentar un meta-anàlisi de 52 estudis amb més de 27.000 pacients que va demostrar un benefici estadísticament significatiu en SLM (HR, 0.31; IC 95%, 0.24-0.39) als 5 anys sobretot en TN (HR, 0.18; IC 95%, 0.10-0.31) i HER2 positiu (HR, 0.32; IC 95%, 0.21-0.47) i SG en pacients amb pCR (HR, 0.22; IC 95%, 0.15-0.30) (mesurat per RCB). L'associació de pCR amb millora de la SLM era similar entre els pacients que rebien QT adjuvant (HR, 0.36; IC 95%, 0.19-0.67) i els que no (HR, 0.36; IC 95%, 0.27-0.54) sense diferències estadísticament significatives entre els 2 grups ($p=0.60$) (197). Així la persistència de malaltia determina un grup de pacients refractàries a la QTNA que es podrien beneficiar de "més tractament" per evitar aquesta recurrència.

La capecitabina, un profàrmac oral de fluorouracil (un agent alquilant), s'ha estudiat en aquest context i dos estudis mostren el seu benefici en SLM. Un és l'estudi CREATE X que va randomitzar 910 pacients amb CM HER2 negatiu tractades amb QTNA (antraciclins i taxans) però amb malaltia residual a rebre o no capecitabina adjuvant per 6-8 cicles (198). La SLM als 5 anys va ser superior a la branca de capecitabina (74,1% vs. 67,6%, HR, 0.70; IC 95%, 0.53-0.92; $p=0.01$) i la SG també (89,2% vs. 83,6, HR, 0.59; IC 95%, 0.39-0.90; $p=0.01$). En el subgrup de pacients CMTN, la SLM va ser del 69,8% vs. el 56,1% (HR, 0.58; IC 95%, 0.39-0.87) i la SG del 78,8% vs. el 70,3% (HR, 0.52; IC 95%, 0.30-0.90). L'altre, l'assaig GEICAM/2003-11-CIBOMA/2004-01 va incloure 876 pacients amb CMTN post QTNA i es van randomitzar a capecitabina adjuvant vs. observació (199). L'objectiu principal era la SLM però no va ser estadísticament significatiu (HR, 0.82; IC 95%, 0.63 a 1.06; $p=0.136$) després d'una mitjana de seguiment de més de 7 anys.

A ASCO 2021 es va presentar l'estudi ECOG-ACRIN EA1131 (200) de no inferioritat on 410 pacients amb CMTN subtipus basal estadi II o III amb més de 1 cm de malaltia residual després de QTNA i es randomitzaven a carboplatí o CDDP trisetmanal durant 4 cicles o capecitabina durant 6 cicles. Després d'una mitjana de seguiment de 20 mesos, la SLM als 3 anys per platí va ser del 42% (IC 95%, 30-53) vs. 49% (IC 95%, 39-59) per capecitabina. Les toxicitats grau 3 i 4 eren més comuns a la branca de platins. Així doncs, aquests no van millorar els resultats en pacients CMTN subtipus basal i sí augmentar la toxicitat.

En aquest context, en els tumors HER2 positiu es va estudiar l'ús d'un nou conjugat anticòs-fàrmac compost per l'anticòs antiHER2 trastuzumab i per l'agent citotòxic antimicrotúbul emtansina (T-DM1), units mitjançant un enllaç estable (201). Gràcies a aquest innovador disseny, T-DM1 actua de forma selectiva sobre les cèl·lules tumorals HER2 positives; per un costat realitza els mecanismes d'acció propis de trastuzumab i per l'altre té un potent efecte citotòxic propi del DM1 (Fig.14). La lliberació selectiva de DM1



a la cèl·lula HER2 positiva disminueix la toxicitat sistèmica, pel que és un fàrmac molt ben tolerat per la majoria de pacients.

T-DM1 es va aprovar per la FDA i, posteriorment, per la EMA al 2019 com agent únic pel tractament adjuvant de pacients amb CM HER2 positiu que presentaven malaltia residual invasiva a la mama i/o a ganglis limfàtics després de QTNA amb taxans i teràpia dirigida a HER2.

Fig. 14. T-DM1 i el seu mecanisme d'acció (201).

L'aprovació de T-DM1 va ser resultat de les dades de l'assaig KATHERINE en el que quasi 1.500 pacients amb CM HER2 positiu amb malaltia residual post QTNA es van randomitzar a rebre T-DM1 vs. trastuzumab adjuvant durant un total de 14 cicles. La SLM als 3 anys va ser significativament millor (88.3% vs. 77%; HR0.5, p<0.001) a favor de T-DM1 (202).

A la Fig. 15 es mostra un esquema del tractament del CM HER2 positiu localment avançat en funció de pCR segons les guies ESMO (203).

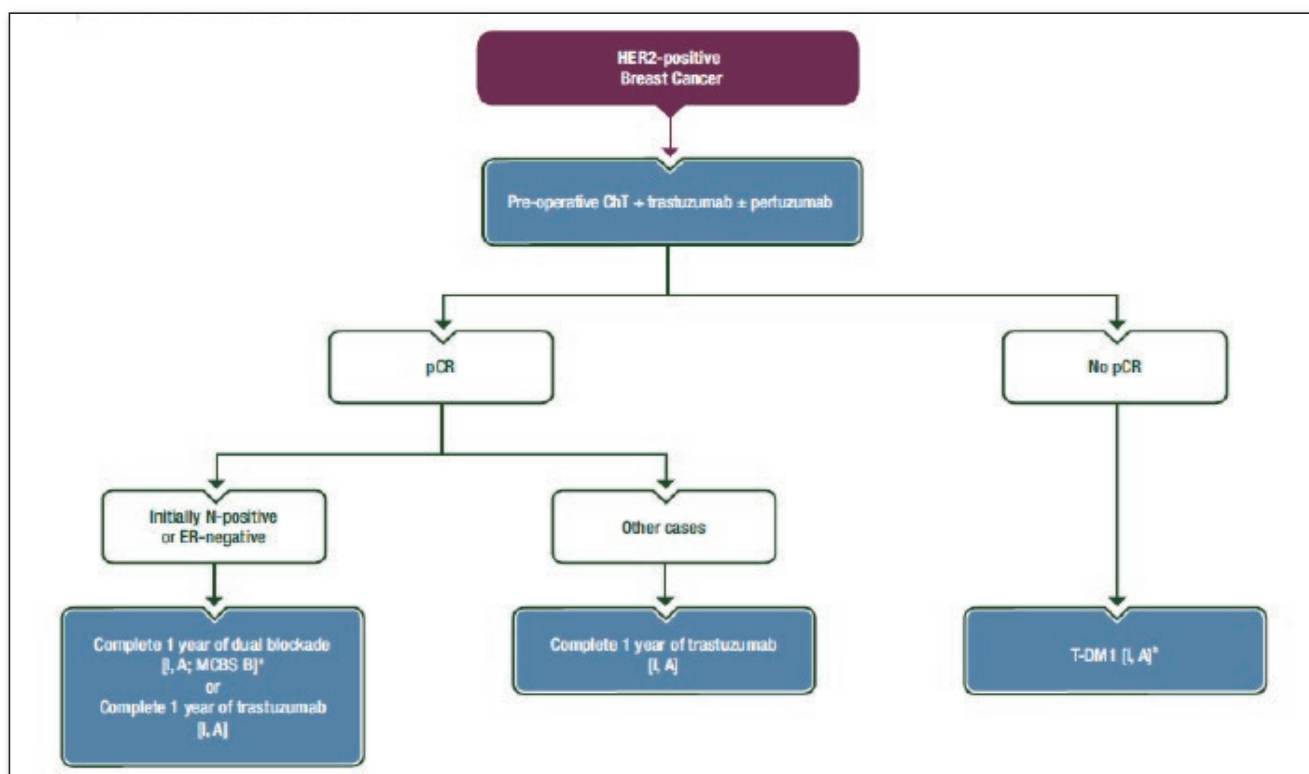


Fig. 15. Tractament en tumors localment avançats HER2 positiu en funció de pCR (203).

1.2- TILS EN EL CÀNCER DE MAMA

Sistema immune en càncer de mama

El càncer és una malaltia inflamatòria formada per cèl·lules tumorals, vasos sanguinis, cèl·lules del teixit connectiu, cèl·lules del sistema immunològic i les cèl·lules involucrades en la resposta inflamatòria.

Una de les *hallmarks* o característiques de les cèl·lules tumorals com podem veure a la Fig.16 és que poden evadir la destrucció immunològica, en particular pels limfòcits T i B, macròfags i cèl·lules *natural killer* (204).

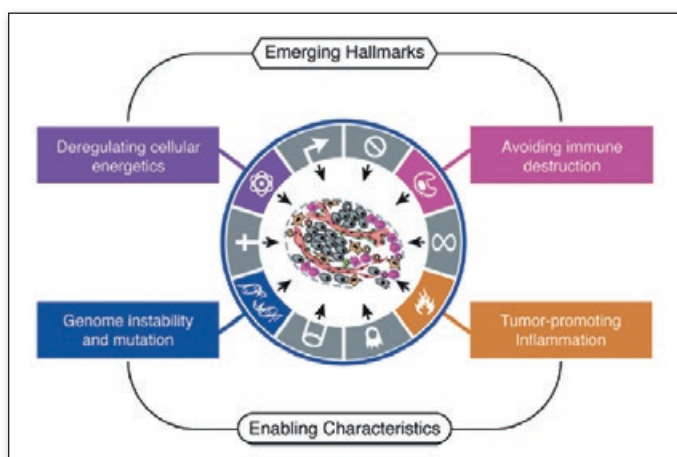


Fig. 16. Característiques del càncer (204).

El sistema immune es divideix en dos tipus: el sistema immune innat o inespecífic (format per macròfags i neutròfils) i l'adaptatiu o específic (format per cèl·lules T i B). L'eliminació de les cèl·lules tumorals està principalment mediat per aquest segon (limfòcits T citotòxics) (205)(206).

La immunitat innata és la primera línia de defensa de l'organisme i representa una resposta ràpida inespecífica a una anormalitat com, p.ex. el càncer. Pel contrari, la immunitat adaptativa és una resposta específica a un particular antigen associat a un tumor (Fig.17). Les dues, la innata i la adaptativa organitzen un ambient inflamatori que ha d'estimular o inhibir el creixement tumoral.

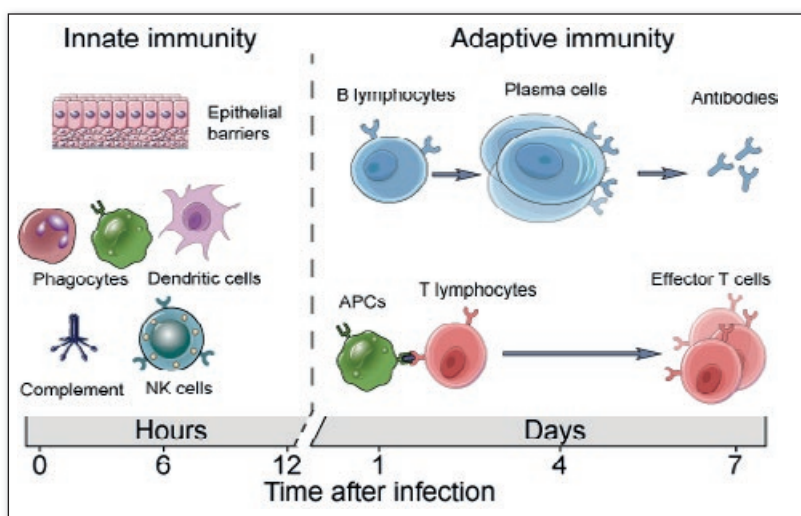


Fig. 17. Tipus d'immunitat (207).

Així doncs, el sistema immune juga un paper important en el procés tumoral. En individus sans té la capacitat de protegir contra les cèl·lules tumorals, un procés que s'anomena immunovigilància; no obstant, quan els tumors es tornen clínicament aparents, la defensa immunològica es torna inefectiva. La interacció entre

el sistema immunitari i les cèl·lules cancerígenes s'anomena "immunoediting" o immunoedició i consisteix en 3 fases: la primera és la fase d'eliminació, on les cèl·lules cancerígenes són eliminades gràcies a la immunovigilància; la segona és la d'equilibri, on les cèl·lules transformades persisteixen però estan sota control pel sistema immunitari i la tercera fase és la d'escapament, on les cèl·lules malignes escapen a aquest control i el tumor progressa (Fig. 18) (208).

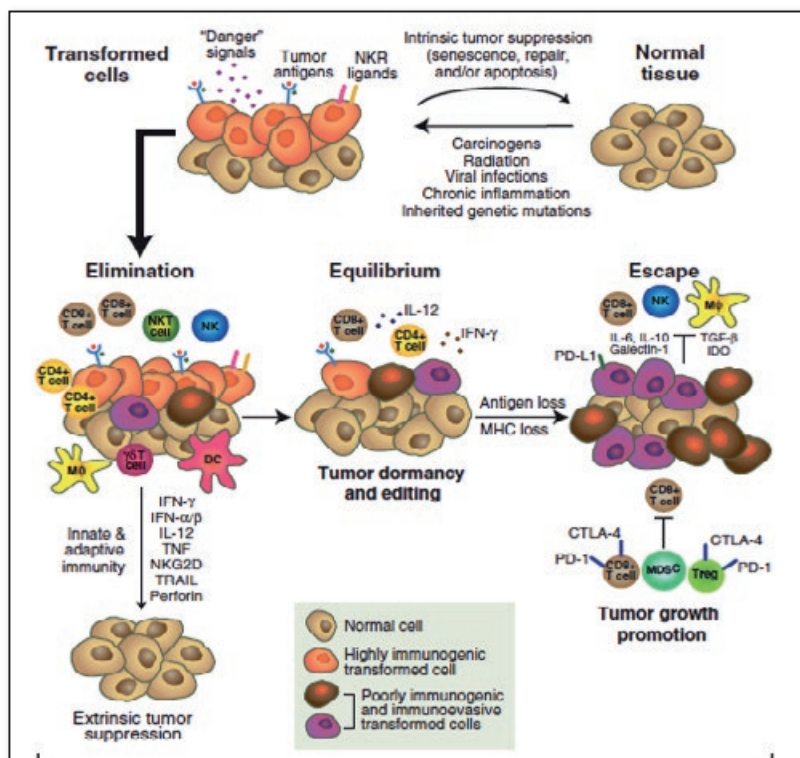


Fig. 18. Immunoedició del càncer (208).

Els limfòcits infiltrants en el tumor (*tumor-infiltrating lymphocytes* o TILs) reflecteixen una resposta immunològica. Aquests infiltrats estan formats per cèl·lules immunes mononuclears (cèl·lules T majoritàriament, cèl·lules B i *natural killer*) que infltren el teixit tumoral (Fig. 19).

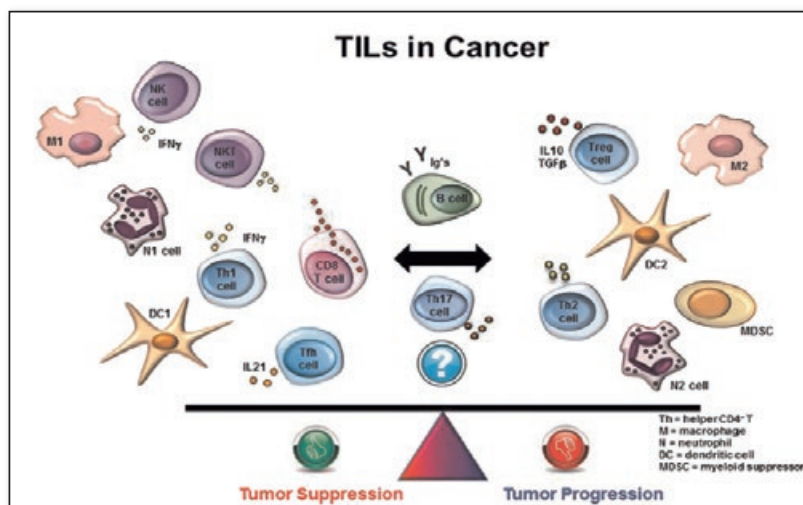


Fig. 19. TILs en càncer. La interacció cel·lular entre diferents grups de leucòcits i la seva predominant contribució a l'activitat pro o antitumoral (209).

Els TILs s'han descrit en diferents tumors sòlids com el melanoma, el càncer de pulmó, de còlon, de cervix i també, de mama (210)(211). Històricament aquest últim, s'ha considerat un tumor immunològicament fred, amb pocs antígens, si ho comparem amb el melanoma o el càncer de pulmó (212).

És molt important com s'avaluen els TILs i per aquest motiu al 2014 es van publicar unes recomanacions internacionals per estandarditzar la seva mesura (209). Segons aquestes guies, s'han de determinar per IHQ amb hematoxilina-eosina (H-E). A les laminetes d'H-E els TILs es diferencien en 2 compartiments: l'estromal i l'intratumoral. Els TILs estromals (sTILs) es defineixen com a limfòcits dins l'estroma entre els nius cel·lulars tumorals; són més freqüents i més abundants que els TILs intratumorals (iTILs). Aquests es defineixen com limfòcits dins dels nius tumorals cel·lulars; són més difícils d'identificar i menys reproduïbles a l'hora de mesurar-los (Fig. 20).

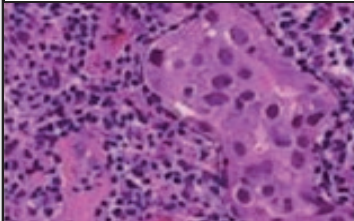
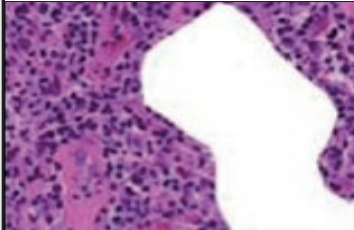
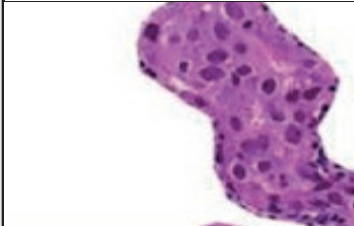
Morfologia	Definició i rellevància biològica
CÀNCER DE MAMA PREDOMINANTMENT LIMFOCITARI (CMPL)	
	Describeix tumors amb "més limfòcits que cèl·lules tumorals".
TILs estromals	
	Indica augment d'acumulació de cèl·lules immunitàries al teixit tumoral.
TILs intratumorals	
	TILs en contacte directe "cèl·lula-cèl·lula" amb les cèl·lules tumorals.

Fig. 20. Morfologia i definicions dels diferents infiltrats immunològics en el CM (adaptació de l'autora) (209).

La presència de TILs en el CM i la seva associació positiva entre alts nivells de TILs i augment de supervivència ja es va descriure per primera vegada al 1922 (213). Aquesta relació favorable s'ha confirmat posteriorment en estudis que engloben més de 17.000 pacients amb CM tant en l'escenari neoadjuvant com adjuvant (214)(215)(216)(217)(218)(219)(220). Hem de dir, però, que el percentatge de TILs varia segons el subtipus moleculars de CM; així, són més freqüents en els tumors HER2 i TN (218) (219).

No tots els components dels TILs tenen el mateix valor pronòstic i al 2016 es va publicar un meta-anàlisi de 22 estudis amb quasi 23.000 pacients que va demostrar que els limfòcits T CD8 o citotòxics no eren un marcador pronòstic per SLM ni per SG a la població general però en pacients amb CMTN la seva presència sí tenia impacte en la SLM (HR, 0.82; IC 95%, 0.76-0.88) i SG (HR, 0.79; IC 95%, 0.71-0.87). A més, aquests limfòcits T CD8 van demostrar que milloraven la supervivència específica per CM en tumors RE negatius (HR,0.73; IC 95%, 0.68-0.80), HER2 positiu (HR,0.71; IC 95%, 0.57-0.88) i TN (HR,0.64; IC 95% CI, 0.54-0.77) (221).

TILs i tractament adjuvant

S'han avaluat àmpliament de manera retrospectiva els TILs en estudis fase III randomitzats en tumors TN i HER2 fet que pot identificar un subgrup de pacients de bon pronòstic (214), (216), (217), (222) i (223) (Taula 11).

El BIG 02-98 és un estudi fase III prospectiu de CM amb afectació ganglionar que va randomitzar a QT adjuvant amb antraciclina vs. antraciclina i taxans. L'addició de docetaxel no va millorar ni la SLM ni la SG en la població general però sí en aquelles amb RE + i alta proliferació (224). Posteriorment, es va analitzar de manera retrospectiva en 2.009 pacients (69.6% del total) la relació entre la quantitat i localització (estromal i intratumoral) dels TILs: en les pacients TN, un augment del 10% de iTILs i sTILs s'associava a una disminució del risc de recaiguda del 17% i 15% ($p=0.001$ i $p=0.025$) respectivament, i un 27% i 17% del risc de mort ($p=0.035$ i $p=0.023$) respectivament, independent del tipus de QT. En el subgrup HER2 positiu també es va evidenciar una relació significativa entre un augment del 10% dels sTILs amb un benefici de la QT amb antraciclina en monoteràpia (SLM $p=0.042$ i SG $p=0.018$) (214).

L'estudi FINHER és un estudi fase III que comparava docetaxel vs. vinorelbina concomitant amb trastuzumab en pacient intervingudes de CM (225). Al 2014 es va publicar un anàlisi retrospectiu que analitzava els sTILs en aquestes pacients. L'objectiu primari era la supervivència lliure de malaltia a distància (SLMD). En el subgrup TN cada 10% d'increment de TILs presentava una disminució del risc de recaiguda a distància (HR, 0.77; IC 95%, 0.61-0.98; $p=0.02$) i en el de HER2+, cada 10% d'increment de TILs s'associava a una disminució de la recurrència a distància en les pacients en tractament amb trastuzumab (HR: 0.82; IC 95%, 0.58-1.16; $p=0.025$) (216).

Amb l'objectiu de validar l'impacte pronòstic dels TILs en CMTN, es va analitzar el valor pronòstic de TILs en pacient amb CMTN de 2 estudis fase III adjuvants (ECOG 2197 i ECOG1199) de manera retrospectiva (226) (227). La majoria de TILs analitzats eren estromals (sTILs, 80%; iTILs, 15%). Per cada increment del 10% de sTILs hi havia un 14% de reducció del risc de recurrència ($p=0.02$), un 18% de reducció del risc de recaiguda a distància ($p=0.04$) i un 19% de reducció del risc de mort ($p=0.01$) (217).

En CM HER2 positiu, un dels primers estudis que va demostrar el benefici de trastuzumab adjuvant va ser l'assaig *North Central Cancer Treatment Group N9831 (Alliance)* en el que dones amb ganglis positius o negatius d'alt risc es randomitzaven a QT (antraciclina i taxans) amb o sense trastuzumab (228). Al 2016 es va publicar un anàlisi retrospectiu on els TILs es van classificar com CM predominantment limfocitari (CMPL) si el valor de sTILs era $\text{CMPL} \geq 60\%$ segons la definició de *Denkert* i col. (229) (Fig. 21). Aquest estudi va demostrar que la presència de sTILs s'associava a millor supervivència lliure de recaiguda (SLR) en pacients tractades amb QT en monoteràpia 90.9% (HR, 0.23; IC 95%, 0.07-0.73; $p=0.01$) però no si es tractaven amb QT més trastuzumab (222).

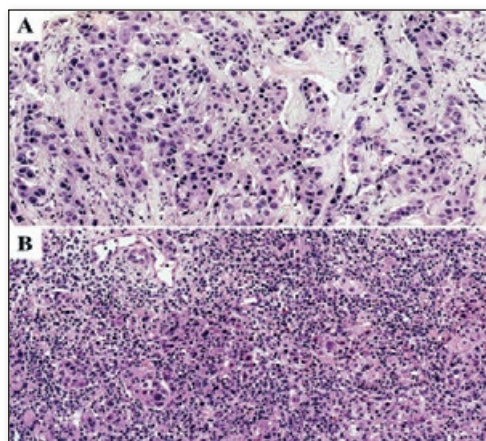


Fig. 21. Imatge representativa de TILs. A. No- CMPL. B. CMPL (229).

L'estudi IBCSG 22-00 és un estudi fase III que avaluava el benefici de dosis baixes de ciclofosfamida i metotrexate de manteniment (prèviament havia demostrat activitat antitumoral i pocs efectes adversos en malaltia metastàsica) en pacients amb CM en estadis inicials (230). Es van analitzar de manera retrospectiva en 647 mostres el valor pronòstic de TILs en pacients CMTN i la interacció de TILs amb dosis baixes de QT de manteniment. Per cada 10% d'increment en TILs, hi havia una reducció del risc de recaiguda del 13% (HR, 0.87; IC 95%, 0.79-0.95; p=0.003). Un anàlisi multivariant va confirmar el valor pronòstic independent dels TILs (223).

ESTUDI	SUBTIPUS	N	ESQUEMA QT	TILs	VALOR DE TALL DE TILs	MITJANA DE SEGUIMENT (ANYS)	HR (SG)
BIG 02-98 (214)	RE+/HER2 – HER2+ TN	1.079 297 256	A → CMF vs. AC → CMF vs. AT → CMF vs. A → T → CMF	Estromals	sTILs com variable contínua CMPL No CMPL	8	1 0.9 0.84
FINHER (216)	RE+/HER2- HER2+ TN	591 209 134	T → FEC vs. V → FEC(Trast si HER2)	Estromals	sTILs com variable contínua CMPL, no CMPL	5.2	0.99 0.98 0.80
N9831 (222)	HER2+	945	AC → T vs. AC → T → H vs. AC → T + H → H	Estromals	sTILs com a variable contínua. CMPL≥60%	5.5	0.23
E2197/E1199 (217)	TN	481	AT vs.AC AC → P vs.T	Estromals	sTILs com variable contínua, CMPL, no CMPL	10.6	0.81
IBCSG 22-00 (223)	TN	647	Ciclofosfamida i metotrexate de manteniment durant 1 any vs. Observació	Estromals	sTILs com a variable contínua. CMPL≥50% vs. no CMPL.	6.9	0.87

Taula 11. Estudis de TILs en adjuvència. A: doxorubicina; CMF: ciclofosfamida, metotrexate i fluorouracil; AT:doxorubicina i docetaxel; T: docetaxel; FEC: fluorouracil, epirubicina i ciclofosfamida; V: vinorelbina; H: trastuzumab; P: paclitaxel.

TILs i tractament neoadjuvant

Actualment no hi ha marcadors subrogats ben establerts que puguin ajudar a predir la probabilitat de pCR en cada cas.

En els últims anys en el camp de la neoadjuvència, diferents estudis (GeparDuo, GeparTrio, GeparQuattro, GeparQuinto, GeparSixto, NeoALTT0) han avaluat el paper de TILs en aquest escenari (145)(231)(232)(233) (188)(167) (Taula 12).

Al 2010 *Denkert* i col. van publicar un anàlisi dels sTILs i iTILs en un total de 1.058 biòpsies pre QTNA de 2 estudis neoadjuvants basats en antraciclina i taxans (Geparduo (145) i GeparTrio (231)). Es va realitzar una anàlisi de regressió multivariada que incloïa tots els factors clínic-predictius coneguts i es va observar que el percentatge de iTILs era un paràmetre independent significatiu per la pCR (p=0.012 i p=0.001) als estudis GeparDuo i GeparTrio respectivament. Els tumors amb CMPL van presentar una pCR del 42% i 40%; en canvi, en els tumors sense iTILs la pCR va ser del 3% i 7% (234).

En els estudis GeparQuattro (232) i GeparQuinto (233) es van avaluar de manera retrospectiva els sTILs en 498 pacients amb CM HER2 positiu. Els nivells de sTILs es determinaven com a paràmetre continu per cada 10% d'increment i per CMPL $\geq 60\%$ i es correlacionava amb pCR i SLM. Els tumors CMPL HER2 positiu, presentaven un augment significatiu del percentatge de pCR comparat amb els tipus no CMPL. Eren predictors de pCR en l'anàlisi univariada (10% TILs: HR, 1.12, $p=0.002$; LPBC: HR, 2.02, $p=0.002$) i multivariada (10% TILs: HR, 1.2, $p=0.014$; CMPL: HR, 1.87, $p=0.009$). Aquest efecte també es va detectar en les pacients tractades amb trastuzumab (10% TILs: HR, 1.12, $p=0.18$; LPBC: HR, 2.08, $p=0.013$) però no en el subgrup tractat amb lapatinib (235).

A l'anàlisi retrospectiva de l'estudi GeparSixto es van avaluar un total de 580 mostres abans de randomitzar per sTILs i CMPL (229). L'increment de sTILs va predir la pCR en l'anàlisi univariada ($p<0.001$) i multivariada ($p<0.001$). El percentatge de pCR era 59.9% en CMPL i 33.8% en no CMPL ($p<0.001$). En els tumors amb CMPL tractats amb carboplatí + antraciclins + taxans, s'observava un major percentatge de pCR (74% i 78% en CMTN i HER2 positiu respectivament) comparat amb pCR de pacients amb CMPL que no es tractaven amb carboplatí (43% i 50% en CMTN i HER2 positiu respectivament, $p<0.005$).

També es va estudiar l'associació entre la presència de TILs, pCR i SLM en pacients amb CM precoç tractades amb trastuzumab, lapatinib o la combinació en l'estudi NeoALTTO (218) on es van analitzar 387 mostres (85.1%). Els nivells de TILs majors a un 5% s'associaven a un augment de pCR independentment del grup de tractament (HR, 2.60; IC 95%, 1.26-5.39; $p=0.01$). Amb una mitjana de seguiment de 3.77 (3.50-4.22) anys, cada augment 1% de TILs s'associava amb un 3% de disminució del percentatge d'event (HR, 0.97; IC 95%, 0.95-0.99; $p=0.002$) en tots els grups de tractament.

L'assaig CherLOB és un estudi fase II que va randomitzar 121 pacients amb CM HER2 positiu a QT neoadjuvant més trastuzumab, lapatinib o ambdós (236). Es van analitzar retrospectivament els sTILs i iTILs i es va observar que s'associaven de manera significativa amb la pCR (HR, 1.03; IC 95%, 1.02-1.05; $p<0.001$ i HR, 1.09; IC 95%, 1.04-1.15; $p<0.001$) per sTILs i iTILs respectivament (237).

L'estudi neoadjuvant fase III GeparSepto (238) amb 1.206 pacients que comparava nab-paclitaxel vs. paclitaxel va demostrar que CMPL predia la OR de pCR (CMPL sí 54.3% vs. CMPL no 15.6%; $p<0.001$) en el grup HER2 negatiu però no en el grup HER2 positiu (CMPL sí 61.7% vs. CMPL no 57.1%; $p=0.601$).

El valor predictiu de TILs que es suggeria principalment per petits estudis retrospectius es va confirmar per un gran meta-anàlisi presentat a SABCS 2016 amb un total de 3.771 tumors de 6 estudis realitzats pel *German Breast Cancer Group*. TILs es va analitzar com a una variable contínua i en 3 grups predefinits com a baix (0-10% sTILs), intermig (11-59%) i alt ($\geq 60\%$) (239). A l'anàlisi univariada, un 10% d'augment de sTILs s'associava a un augment de SLM en CMTN (HR, 0.93; IC 95%, 0.87-0.98; $p=0.011$) i CM HER2 positiu (HR, 0.94; IC 95%, 0.89-0.99; $p=0.017$). L'augment de SG en CMTN (HR, 0.92; IC 95%, 0.86-0.99; $p=0.032$) no s'observava en CM HER2 positiu (HR, 0.94; IC 95%, 0.86-1.02; $p=0.11$) i s'associava amb menor SG en tumors luminals (HR, 1.10; IC 95%, 1.02-1.19; $p=0.011$).

L'any 2017 Solinas i col. va publicar un meta-anàlisi que avaluava un total de 5 estudis neoadjuvants amb 1.256 pacients. Globalment, el subgrup amb alts nivells de TILs s'associava a un augment significatiu del percentatge de pCR (HR, 2.46; IC 95%, 1.36-4.43; $p=0.003$). No es va observar interacció entre els subgrups de sTILs (alt vs. baix) i resposta al tractament amb antiHER2 (trastuzumab vs. lapatinib vs. combinació) ($p=0.747$) i QT (antraciclins i taxans vs. taxans) ($p=0.201$) (240).

Malgrat el gran nombre d'assajos clínics que avalen l'evidència, l'anàlisi de TILs encara no s'ha inclòs com a

biomarcador en la pràctica clínica habitual en el càncer de mama en estudis inicials, com es va reportar a l'última publicació de biomarcadors d'ASCO al 2017 (241).

La 17th *St. Gallen International Breast Cancer Conference* (242) celebrada al 2021 recomana l'avaluació de TILs en CMTN com a factor pronòstic encara que no es recomana la desescalada del tractament sistèmic en funció d'aquest paràmetre. La *WHO Classification of tumors: Breast Tumors, 5th edition* recomana la quantificació de TILs a nivell histopatològic en CMTN i HER2 positiu expressat com un percentatge mig de la infiltració limfoplasmàtica de l'estroma tumoral (44).

ESTUDI	N	SUBTIPUS	TILs	OR pCR (p)	pCR LPBC vs pCR non LPBC(p)
GeparDuo (234)	218	Tots (n=218)	sTILs per 10% iTILs per 10%	N.S 1.54 (p<0.0005)	41.7 vs. 10.8 (focal TILs) vs. 2.8 (No TILs) (<0.0005)
GeparTrio (234)	840	Tots (n=840)	sTILs per 10% iTILs per 10%	1.18 (p<0.0005) 1.21(0.001)	40.0 vs. 15.4 (focal TILs) vs. 7.2 (No TILs) (<0.0005).
GeparQuattro (235)	178	HER2 (n=178)	sTILs per 10% iTILs per 10%	1.15 (0.003) NR	63.8 vs. 42 (0.011)
GeparQuinto (235)	633	HER2 neg (n=313)	sTILs per 10% iTILs per 10% LPBC (≥60% vs.<60%)	1.2 (0.11) 1.2 (0.01) 2.7(0.003)	36.6 vs. 14.3 (0.002)
		HER2 pos (n=320)	sTILs per 10% iTILs per 10%	NS NR	52.6 vs. 39.5 NS
GeparSixto (229)	580	HER2 pos (n=266)	sTILs per 10% LPBC (≥60% vs.<60%)	1.28 (NS) 4.19 (n<0.001)	64.1 vs.. 27.2 (<0.001)
		TN (n=314)	sTILs per 10% LPBC (≥60% vs.<60%)	1.17 (N.s) 2.17 (0.005)	57.3 vs. 40 (0.006)
NeoALTO (218)	387	HER2 (n=387)	sTILs per 1%	0.97 (0.002)	NR
CherLOB (237)	105	HER2 (N=105)	sTILs per 1% iTILs per 1%	NR NR	64.7 vs. 25
GeparSepto (238)	1.206	HER2 neg (n=810)	LPBC (≥60% vs.<60%)	NR	54.3 vs. 15.6 (0.001)
		HER2 pos (n=396)	LPBC (≥60% vs.<60%)	NR	61.7 vs. 57.1 (0.601)

Taula 12. Estudis de TILs en neoadjuvència. NR: no reportat; NS: no significatiu.

TILs en la malaltia residual

Generalment la malaltia residual després de QTNA està associada amb pitjor pronòstic (139) i hi ha pocs estudis que analitzin els TILs en la malaltia residual que són, sobretot, en pacients diagnosticades de CMTN.

Un d'aquests estudis analitzava 816 pacients en el context de dos assajos multicèntrics fase III que comparaven QT adjuvant amb antraciclins vs. no QT (243). Mitjançant la tècnica d'H-E es van analitzar 781 mostres. S'avaluaven els iTILs i sTILs en funció d'alt nivell de TILs (iTILs o sTILs ≥ 50%) o baix nivell de TILs (<50%). En un estudi multivariant tant iTILs com sTILs eren un fort factor pronòstic per SG (HR, 0.85; IC 95%, 0.77-0.95; p=0.003 i HR, 0.89; IC 95%, 0.81-0.96; p=0.005) per iTILs i sTILs respectivament. En les pacients amb

CMTN, la SG als 10 anys era 89% i 68% per alt nivell de TILs i baix nivell de TILs, respectivament (HR, 0.44; IC 95%, 0.18-1.10; p=0.07) i en pacients HER2 positiu, 78% i 57% per alt nivell de TILs vs. baix nivell de TILs respectivament (HR, 0.46; IC 95% 0.20-1.11; p=0.08).

Un altre estudi va analitzar 278 mostres de pacients diagnosticades de CMTN que presentaven malaltia residual després de QTNA. Es van classificar en alt nivell de TILs si iTILs o sTILs >60%. iTILs i sTILs eren forts factors pronòstics en el model multivariant per SLM (HR, 0.86; IC 95%, 0.77-0.96; p=0.01 i HR, 0.85; IC 95%, 0.75-0.98, p=0.02) per sTILs i iTILs respectivament) i SG (HR, 0.86; IC 95%, 0.77-0.97; p=0.01 i HR, 0.86; IC 95%, 0.75-0.99; p=0.03) per sTILs i iTILs respectivament. La SG als 5 anys va ser del 91% (IC 95%, 68% - 97%) per alt nivell de TILs (N=27) i 55% (IC 95%, 48% a 61%) per baix nivell de TILs (HR, 0.19; IC 95%, 0.06-0.6; p=0.0017). El major impacte pronòstic de TILs es va observar en les pacients amb gran volum de malaltia després de QTNA (tumor residual > 2 cm i /o metàstasis ganglionars) (244).

Actualment hi ha estudis en marxa per validar i estandarditzar l'avaluació dels TILs ja que poden ser uns bons marcadors pronòstics i predictius de resposta en CM sobretot en els subtipus HER2 i TN i així incorporar-los en un *immuno-score* en la pràctica clínica habitual.

En conclusió, la presència de TILs representen un biomarcador robust predictiu i pronòstic sobretot en pacients amb CMTN i HER2 positiu.

De tot el que he exposat fins ara, es conclou que la presència de TILs

- En adjuvència és un biomarcador pronòstic en CMTN i HER2+
 - Les pacients amb CMTN mostren una robusta relació lineal entre un augment de TILs i una millora en la SLM com s'observa en les anàlisis retrospectives-prospectives dels estudis BIG 02-98 (214), FinHER (216), ECOG 2197 i ECOG 1199 (217) i el IBCSG 22-00 (223).
 - En HER2 positiu, també es va demostrar que alts nivells de TILs augmentaven la SLM en els estudis BIG 02-98 (214), FinHER (216) i N9831 (222).
- En neoadjuvència és un biomarcador predictiu de resposta (pCR) en tumors TN i HER2+ (218)(229) (234) (235)(237)(238).
- En malaltia residual del CMTN confereix un bon pronòstic (243)(244) malgrat que la malaltia residual en aquest subtipus es considera un marcador de mal pronòstic.

1.3- RECEPTORS ANDROGÈNICS EN EL CÀNCER DE MAMA

Receptors androgènics

Les hormones esteroidees (andrògens i estrògens) estan involucrades en el desenvolupament i diferenciació del teixit mamari normal i la seva activitat depèn dels seus nivells en sang (245). Com ja hem comentat anteriorment, una de les dianes terapèutiques del CM són els RE però desafortunadament molts presenten resistències *de novo* a aquests tractaments o desenvolupen una resistència adquirida en el temps, que afecta al 30-50% de les pacients (246)(247)(248). És per això, que la recerca està dirigida a descobrir nous tractaments per superar aquestes resistències com p.ex. noves dianes moleculars en el fenotipus molecular luminal, com les citoqueratines 4/6 depenents de ciclins (CDK4/6) i en menor mesura, en les vies dels receptors androgènics (RA) (249). Mentre que el paper de les primeres ha estat ben estudiat i els seus inhibidors han mostrat un benefici en el CM perfil luminal, la segona encara no ha estat clara (250).

En el CM, els RA estan expressats en més d'un 60% (251). En funció del subtipus, l'expressió dels RA variarà: en els tumors RE positius fins a un 90% (252) i en els tumors HER2 positiu, fins a un 60% (253). Com ja hem comentat prèviament, en el CMTN s'han establert 6 subgrups: *Basal-like 1*, *Basal-like 2*, *Mesenquimal*, *Mesenquimal stem-like*, *Immunomodulatori* i *Luminal androgen receptor (LAR)*(81). Aquest últim, es caracteritza per un alt nombre de RA i expressió de citoqueratines luminals (254).

Valor pronòstic dels RA

El paper pronòstic del RA en el CMTN és controvertit. Hi ha estudis que han destacat el paper pronòstic favorable dels RA en els tumors CMTN LAR. Tres meta-anàlisis han demostrat un augment de la SLM en pacients amb CM RA positiu vs. negatiu (Taula 13).

En el meta-anàlisi de *Qu i col.*, el percentatge de RA va ser del 65.2%. L'anàlisi suggeria que l'expressió de RA en CM era un indicador de baix risc de recaiguda. La HR de SG per tots els estudis era 0.66 però no va aconseguir la significació estadística (255). *Kim i col.* va publicar un segon meta-anàlisi on es van revisar 16 estudis publicats entre 1992 i 2013, analitzant 521 pacients amb CMTN. Les pacients amb RA positius presentaven un menor risc de recaiguda estadísticament significatiu comparat amb altres subgrups de CMTN (256). Finalment, el meta-anàlisi de *Wang i col.* va confirmar que les pacients amb CMTN RA positiu tenien un 20% de menor risc de recaiguda comparat amb RA negatiu (257). A més, va demostrar que els RA expressats en el 24.4% de totes les pacients CMTN s'associava de manera significativa a pacients postmenopàusiques (26.9% vs. 13.4%), baix grau (40.8% G1-G2 i 23% G3) i amb alt risc d'afectació ganglionar (28.8 vs. 22.6%). Altres estudis també associen els RA amb baix estadiatge clínic i grau nuclear (258)(259).

Mentre que la SLM era similar en els 3 estudis, *Qu i Wang* van trobar que no hi havia associació entre RA i SG, mentre que *Kim i col.* va demostrar un benefici en SG per les pacients CMTN RA positius (HR 0.26, p=0.001). Aquesta dada s'ha confirmat en un estudi prospectiu per *Asano i col.* (260).

El meta-anàlisi més gran publicat va demostrar un augment estadísticament significatiu en SG als 3 (HR, 0.47; IC 95%, 0.39–0.58; p <0.001) i als 5 anys (HR, 0.40; IC 95%, 0.29–0.56; p < 0.001) en CM RA positius. A més, aquest estudi va mostrar que l'expressió de RA augmentava la SLM als 3 (HR, 0.43; IC 95%, 0.35 a 0.52; p<.001) i als 5 anys (HR, 0.34; IC 95%, 0.21 to 0.56; p <.001) (261).

META-ANÀLISI	ESTUDIS	N	LM	SG
Qu i col. (255)	12	5.270	HR, 0.52; IC 95%, 0.43-0.64; p=0.058	HR, 0.66; IC 95%, 0.41-1.0; p=0.005
Kim i col. (256)	16	5.420	HR, 0.44; IC 95%, 0.26-0.75; p=0.002	HR, 0.26; IC 95%, 0.12-0.55; p=0.001
Wang i col. (257)	13	2.826	HR, 0.8; IC 95%, 0.659-0.995, p<0.05	HR, 1.270; IC 95%, 0.904-1.782; p=0.168
Vera-Badillo i col. (261)	19	7.693	SLM als 3 anys HR, 0.43; IC 95%, 0.35 a 0.52; p<0.001 SLM als 5 anys HR, 0.34; IC 95%, 0.21 to 0.56; p<0.001	SG als 3 anys HR, 0.4; IC 95%, 0.39–0.58; p<0.001 SG als 5 anys HR, 0.4; IC 95%, 0.29–0.56; p<0.001

Taula 13. Meta- anàlisis que avaluen el paper pronòstic dels RA.

Valor predictiu dels RA

En quant al seu valor predictiu, s'ha demostrat que les pacients amb CMTN RA positiu són menys quimiosensibles que la resta de subtipus CMTN. Diferents estudis, particularment en el camp de la

neoadjuvència (262) han investigat si el RA és un marcador de quimioresistència en aquest grup.

Després d'analitzar les mostres de pacients de l'assaig clínic GeparTrio (231), ja comentat prèviament, es va avaluar l'expressió de RA i els seus resultats. De 637 biòpsies del tumor primari que van fer QTNA segons l'esquema TAC (docetaxel + doxorubicina + ciclofosfamida) els RA es van detectar en un 53.2%. En els tumors RA positius, la pCR va ser del 12.8% comparat amb el 25.4% en CMTN RA negatius ($p < 0.0001$). El subgrup de tumors CMTN RA positius va presentar millor SLM (RA positius 85.7% vs. 65.5%, $p = 0.0544$) i SG (95% vs. 76.2%, $p = 0.0355$). En el grup que no va aconseguir pCR, RA positiu va presentar millor SLM ($p = 0.045$) i SG ($p = 0.021$) però no en el grup de pCR.

Masuda i col. (263) va classificar 146 pacients amb CMTN segons la seva expressió gènica i va trobar que el subtipus LAR presentava menor pCR (10%). De manera similar, la pCR era menor en RA positiu vs. RA negatiu (17.4% vs. 63.2%, $p = 0.001$) en CMTN en un estudi prospectiu en 177 dones japoneses (264).

Diana terapèutica

En quant al RA com a diana terapèutica s'han realitzat diferents estudis (Taula 14). Moltes anàlisis preclíniques demostren la sensibilitat de la línia cel·lular LAR a medicació antiandrogènica (265). El primer estudi es va publicar al 2013 per *Gucalp* i col. Aquest era un estudi fase II per testar la bicalutamida (antagonista no esteroïdal dels RA de primera generació que s'administra via oral) en el tractament de dones amb CMTN RA positiu (266). L'objectiu principal era el percentatge de benefici clínic (PBC) definit com el nombre total de pacients que van demostrar resposta completa (RC), resposta parcial (RP) o estabilitat de la malaltia (EM) > 6 mesos, mentre que els objectius secundaris eren SLM, seguretat i toxicitat. El PBC va ser del 19% amb una mitjana de SLM de 12 setmanes. El tractament va ser ben tolerat i els efectes adversos més comuns eren fatiga, sufocacions, edemes i elevació de les transaminases.

A ASCO 2015 es va presentar un estudi fase II que va avaluar l'enzalutamida (antagonista de RA de nova generació que inhibeix la translocació nuclear) en el CMTN metastàtic i RA positiu. L'objectiu principal era el PBC definit com RC i RP i EM a les 16 setmanes $\geq 10\%$. Entre les 75 pacients avaluades, es va demostrar un PBC a les 16 i 24 setmanes del 35 i 29% respectivament. La mitjana de supervivència lliure de progressió va ser de 14.7 setmanes (267).

Finalment, presentar un altre estudi amb acetat d'abiraterona (potent inhibidor selectiu irreversible de l'activitat enzimàtica de CYP17). Aquesta va ser administrada en dosi de 1.000 mg via oral de manera continuada en dones molt pretractades afegint 5 mg de prednisona 2 vegades al dia per evitar els efectes adversos relacionats amb l'augment dels nivells de mineralocorticoides (268). De les 146 pacients que es van cribrar, 30 van ser avaluades. El PBC va ser del 20% i el percentatge de resposta del 6.7%. La SLM de 2.8 mesos. El cansament, la hipertensió, la hipopotasèmia i la nàusea van ser els efectes secundaris més freqüents, sobretot grau 1 i 2.

	N	RA	PBC 6 mesos	SLM
Bicalutamida (266)	51	$\geq 10\%$	19%	3
Enzalutamida (267)	75	$\geq 10\%$	29%	3,3
Abiraterona (268)	30	$\geq 0\%$	20%	2,8

Taula 14. Estudis on s'analitzen els antiandrògens com a diana terapèutica.

Actualment hi ha molts estudis en marxa en el camp de la neoadjuvència i malaltia metastàsica amb antiandrògens en monoteràpia o en combinació amb altres fàrmacs.

De tot l'exposat fins ara podem concloure que els RA en CMTN:

- Són un factor pronòstic: augmenten la SLM i SG com ho demostren els diferents meta-anàlisis presentats anteriorment.
- Són un factor predictor de quimioresistència a la QTNA.

1.4- RÀTIO NEUTRÒFIL/LIMFÒCIT EN EL CÀNCER DE MAMA

La resposta inflamatòria té un paper important en el desenvolupament i progressió de diferents càncers incloent el de mama ja comentat prèviament (269)(270)(271). Els neutròfils promouen la proliferació tumoral cel·lular, l'angiogènesi i les metàstasis a distància mentre que els limfòcits juguen un paper central en les reaccions immunes contra el càncer.

La neutrofilia i la limfopènia s'han reportat en pacients amb càncer i la ràtio neutròfil/limfòcit (RNL) precirurgia definida com el valor absolut de neutròfils dividit entre el valor absolut de limfòcits en sang perifèrica (272) s'ha associat amb el pronòstic en pacients amb cirurgia radical (273)(274). A més, diversos estudis han demostrat que l'elevació de marcadors inflamatoris com la RNL i la ràtio plaqueta /limfòcit (RPL) s'associen a pitjor pronòstic en pacients amb diferents tumors (275)(276).

El valor pronòstic de la RNL i RPL pretractament també s'ha observat en pacients amb CM. Asano i col. (277) va fer un estudi en pacients amb CMTN que realitzaven QTNA i va demostrar que baixos nivells de RNL (<3) presentaven un alt percentatge de pCR ($p < 0.001$) comparat amb alts nivells (≥ 3). En la mateixa línia, dos estudis espanyols han demostrat que la baixa RNL (<3.33) s'associa a menor percentatge de recaiguda ($p = 0.015$) i millor supervivència ($p = 0.0024$) (278) i baixa RPL a millor SLM als 3 anys (85.1% vs. 63.6%; $p = 0.04$) i SG (89.3% vs. 68.1%, $p = 0.03$) (279).

Al 2015 es va publicar un meta-anàlisi de 8 estudis amb 4.293 pacients amb CM que va demostrar que alts nivells de RNL (>3) presentaven pitjor SLM (HR, 1.38; IC 95%, 1.09-1.74; $p = 0.050$) i SG (HR, 2.28; IC 95%, 1.08-4.80; $p < 0.001$) (280).

HIPÒTESIS

2. HIPÒTESIS

2.1- Hipòtesi principal

Fins a l'actualitat s'han publicat diversos estudis en CM amb tractament neoadjuvant que han demostrat l'associació entre alts nivells de TILs, percentatge de pCR i augment de la supervivència en els subtipus TN i HER2. Tanmateix, el valor de TILs encara no s'ha establert com un biomarcador predictiu ni pronòstic que s'analitzi en la pràctica clínica habitual. La nostra hipòtesi principal és que els nivells de TILs sí poden ser un biomarcador predictiu de resposta i pronòstic que pot ajudar a individualitzar el tractament de les pacients amb CM HER2 positiu i TN i en alguns casos del subtipus luminal d'alt risc.

2.2- Hipòtesis secundàries

Biomarcadors com els RA ens poden ajudar a predir quins tumors són quimioresistents i per tant, poder administrar tractaments menys tòxics amb el disseny d'estudis de nous fàrmacs.

La RNL actualment està en investigació en diferents càncers i pot ser també un marcador predictiu i pronòstic en les pacients amb CM que ens ajudi a seleccionar millor les pacients per QTNA.

OBJECTIUS

3- OBJECTIUS

3.1- Principal

- Analitzar el paper predictiu i pronòstic de TILs en les pacients diagnosticades de CMLA tractades amb QTNA en funció del subtipus IHQ a l'hospital de Mataró des de gener de 2002 a desembre de 2015.

3.2- Secundaris

- Analitzar el valor predictiu i pronòstic del RA en les pacients amb CMLA tractades amb QTNA.
- Analitzar el valor predictiu i pronòstic de la RNL en pacients diagnosticades de CMLA tractades amb QTNA.
- Descriure les característiques clínico-patològiques de les pacients tractades amb QTNA de la nostra població a estudi.

MATERIAL I MÈTODES

4- MATERIAL I MÈTODES

4.1- Disseny

S'ha realitzat un estudi observacional, unicèntric, retrospectiu a partir de les dades obtingudes de la història clínica informatitzada de les pacients diagnosticades de CMLA estadi II i III tractades amb QTNA a l'Hospital de Mataró de gener de 2002 a desembre de 2015.

L'estudi va ser aprovat pel Comitè d'Ètica d'Investigació Clínica (CEIC) del Consorci Sanitari del Maresme el dia 24 de febrer de 2016.

4.2- Població a estudi

Pacients amb diagnòstic de CMLA estadi II i III segons la AJCC 7^a edició del 2009.

4.3- Mostra a estudi

Les pacients candidates a participar en aquest estudi eren aquelles que complien tots els criteris d'inclusió i cap dels criteris d'exclusió.

Criteris d'inclusió

- Diagnòstic per BAG d'un carcinoma infiltrant de mama en pacients amb CMLA estadi II i III a l'Hospital de Mataró.
- Tributàries a QTNA.
- Seguiment posterior a CCEE del servei d'Oncologia Mèdica de l'Hospital de Mataró.

Criteris d'exclusió

- Pacients diagnosticades de CMLA per PAAF.
- Malaltia metastàsica.
- Tributàries a tractament hormonal neoadjuvant.

4.4- Mostreig i reclutament

Les pacients es van identificar a través de la base de dades de primeres visites del servei d'Oncologia Mèdica des de gener 2002 fins a desembre de 2015 de l'Hospital de Mataró amb la codificació diagnòstica de CM (segons CIM 9-MC, 174.9).

Totes les pacients van fer un seguiment posterior per aquest servei segons la pràctica clínica habitual: controls cada 3 mesos els dos primers anys amb analítica i mamografia anual, cada 6 mesos fins als 5 anys i a partir d'aquesta data, anualment fins als 10 anys en que es donaven d'alta.

4.5- Principals factors a estudi

RE, RPg, HER2, Ki-67 i grau histològic

Es van avaluar per IHQ els RE, RPg, Ki-67 i el grau histològic. L'expressió HER2 es va analitzar també per IHQ i la seva puntuació va ser determinada d'acord amb els criteris d'ASCO/ *College of American Pathologist* (CAP)

guidelines (281). Els tumors amb 2+ es testaven per FISH. El nivell de Ki-67 es va classificar en alt ($\geq 20\%$) vs. baix ($< 20\%$) (91)(282).

Basats en els resultats d'IHQ, els tumors es classificaven en luminal A (RE/RPg+, HER2 - i Ki-67 $< 20\%$), luminal B (RE+, HER2-, baix o alt Ki-67), luminal B/ HER2+ (RE i HER2+), HER2 + (RE/RPg-, HER2+) o TN (RE/RPg-, HER2) segons els criteris de *St. Gallen* de l'any 2013 (55).

TILs

Els TILs es van avaluar per IHQ a la biòpsia pre QTNA i a la peça quirúrgica post QTNA d'acord amb les recomanacions del Grup de Treball Internacional (209). Els TILs es van calcular com el percentatge de cèl·lules immunològiques mononuclears (incloent els limfòcits i les cèl·lules plasmàtiques) al teixit estromal del tumor (sTILs). El nombre de TILs es va analitzar com una variable categòrica contínua amb increments del 10%; addicionalment, es van predefinir 3 categories: baix nivell de TILs (0-10%), nivell intermig de TILs (11-59%) i alt nivell de TILs (60-100%). Es va definir CMPL com tumor amb $\geq 50\%$ TILs.

RA

Els RA es terminen per IHQ; es consideraven positius si $\geq 1\%$.

RNL

La RNL es va calcular com el valor absolut del quocient neutròfil/ limfòcit a l'anàlisi prèvia a l'inici de la QTNA.

4.6- Principals mesures de resultat

- **pCR:** la pCR es va definir com la completa desaparició de totes les cèl·lules tumorals invasives al teixit mamari i a les adenopaties axil·lars malgrat la presència de carcinoma intraductal residual (ypT0/is N0) (283).
- **Supervivència global (SG):** temps des del diagnòstic a la mort per qualsevol causa. Es va registrar la mortalitat, la data de mort i el motiu de la mort segons constava a l'informe de la història clínica.
- **Supervivència lliure de malaltia (SLM):** temps des de la cirurgia per CM a la recaiguda. Es va registrar si hi havia recaiguda de la malaltia, data de la recaiguda, tipus de recaiguda (local, M1 única, M1 múltiples en un sol òrgan o en diferents òrgans), lloc de la recaiguda (pulmó, fetge, os, SNC, ganglionar, carcinomatosis peritoneal ...).

4.7- Temps de seguiment

Fins la mort, fins l'últim control o fins 31 de desembre de 2020.

4.8- Altres variables a estudi

Es van recollir variables demogràfiques (edat i gènere), característiques de la malaltia neoplàsica: data del diagnòstic, data de la cirurgia, tipus de cirurgia tant a la mama com a l'aixella, nivell de CA 15.3 pre i post cirurgia i tipus i duració de la QTNA.

També es van recollir les variables de l'informe d'anatomia patològica: classificació TNM 7a edició segons l'AJCC, grau histològic, invasió limfàtica-vascular (ILV), invasió perineural, diàmetre tumoral i nombre de ganglis extirpats.

Es va revisar el tipus de quimioteràpia administrada (antraciclins en monoteràpia o antraciclins seguit de taxans) i l'any en què es va realitzar.

L'esquema de QTNA administrat va ser FEC (5-fluorouracil 600 mg/m², epirubicina 90 mg/m² i ciclofosfamida 600 mg/m²)/21 dies per 4-6 cicles (284), AC (doxorubicina 60 mg/m² i ciclofosfamida 600mg/m²) /21 dies per 4 cicles o EC (epirubicina 90 mg/m² i ciclofosfamida 600 mg/m²) /21 dies x 4 cicles seguit de docetaxel 100 mg/m²/21 dies durant 4 cicles o paclitaxel 80 mg/m² durant 12 setmanes (285). L'esquema amb docetaxel 100 mg/m² s'administrava amb factors estimulants de colònies (G-CSF) ja que es va demostrar que disminuïa la incidència de neutropènia febril (NF) i d'hospitalització en més d'un 90% (p<0.001), essent la incidència de NF amb placebo un 17% i amb G-CSF un 1% (p<0.001) (286).

4.9- Font d'informació

Història clínica, laboratori, informes d'anatomia patològica a través de la història clínica arxivada en paper i informatitzada (a partir de l'any 2012) de l'Hospital de Mataró. El tipus de programa informàtic és un sistema d'informació hospitalària, HIS (*hospital information system*).

4.10- Gestió i anàlisi de les dades

Es van recollir les variables de l'estudi en una base de dades programa Access amb identitat codificada.

4.11- Anàlisi estadístic

Totes les dades es van registrar en una base de dades electrònica per la seva posterior depuració i anàlisi estadística. La descripció de les principals característiques de la mostra d'estudi es van realitzar amb mitjanes i desviacions estàndard per a les variables quantitatives i freqüències absolutes i relatives per a variables qualitatives.

Per analitzar l'associació entre les categories de TILs i les variables clínico-patològiques es va utilitzar el test de Xi- quadrat o l'exacte de Fisher (en cas de tenir alguna freqüència esperada inferior a 5) per comparar proporcions i el test U de Mann-Whitney per comparar mitjanes.

Per analitzar la SLM i SG es van realitzar corbes de supervivència amb taules de Kaplan-Meier. Es va aplicar el test de Log-rank per analitzar les diferències entre corbes de supervivència dels diferents factors. Posteriorment, es van realitzar models de regressió de Cox simple i múltiple, per valorar els efectes simples i independents dels diferents factors sobre la supervivència global i la progressió.

Per analitzar els factors associats a pCR, també es va utilitzar el test de Xi-quadrat o exacte de Fisher per comparar proporcions i el test U de Mann-Whitney per comparar mitjanes. Es van realitzar regressions logístiques simples per avaluar l'efecte dels diferents factors sobre la pCR. Totes les variables que van resultar estadísticament significatives en l'anàlisi bivariada, es van incorporar a un model multivariant amb el mètode *stepwise* per avaluar l'efecte independent d'aquestes sobre la pCR.

Es van considerar estadísticament significatius els resultats amb p<0.05.

A partir de les característiques del tumor associades a pCR (TILs, RA, RE, Ki-67, HER2, RNL i CA 15.3), es va realitzar un model per predicció de resposta o *score*. No es va incloure la ILV pels *missings*.

RESULTATS

5- RESULTATS

5.1- Diagrama de flux

Inicialment es van identificar 185 pacients diagnosticades de CMLA que havien fet QTNA a l'Hospital de Mataró entre 1 de gener de 2002 i 31 de desembre de 2012. D'aquestes, 14 s'havien diagnosticat erròniament (eren pacients metastàsiques o pacients que no tenien indicació per QTNA) i en 78 pacients el diagnòstic s'havia fet per PAAF pel que només es podien analitzar 93 mostres i es va decidir ampliar fins a 31 de desembre de 2015. Finalment, 80 pacients es van diagnosticar per PAAF pel que es van excloure de l'estudi (Fig. 22).

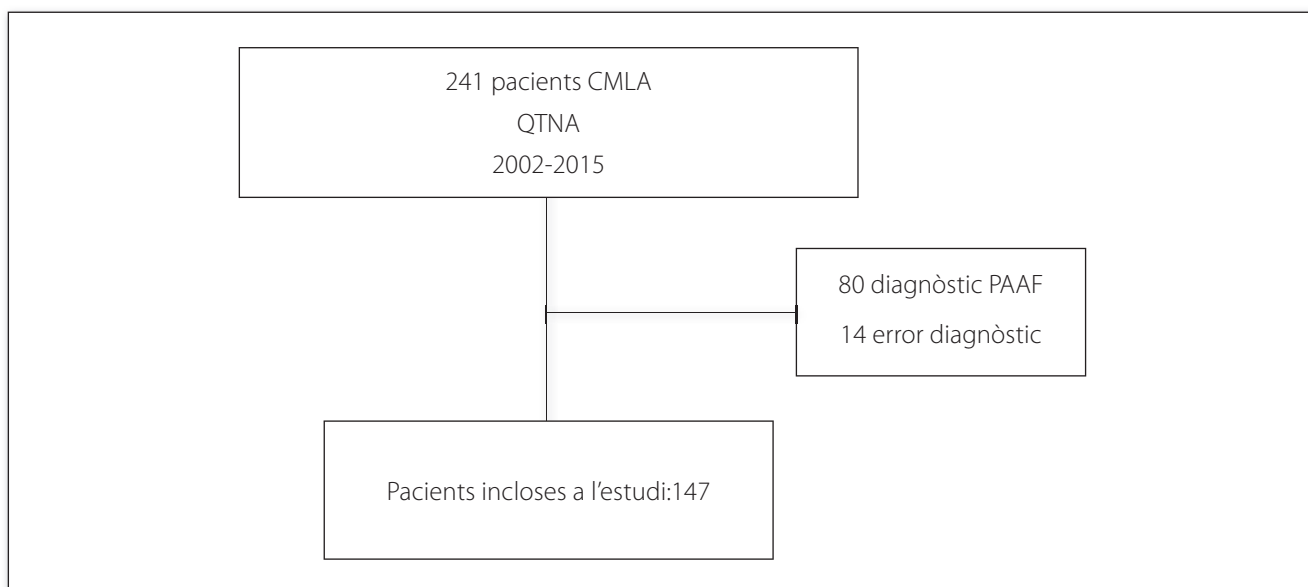


Fig. 22. Diagrama de flux, pacients a estudi.

5.2- Anàlisi descriptiva

En el nostre estudi el 99.3% (n:146) de la mostra eren dones. L'edat mitjana al diagnòstic eren 50 anys (desviació típica: 12.08). Un 52.4% (n:77) de les pacients eren premenopàusiques. El 93.2% (n:137) de les pacients tenien un PS 0 i un 88.4% (n:130) es van diagnosticar per autopalpació.

De les pacients que vàrem poder obtenir les dades antropomètriques mitjançant la història clínica, més d'una tercera part tenien infrapès (37.4% (n:55)) mentre que el 22.4% (n:33) presentaven sobrepès.

Respecte els perfils IHQ, un 25.8% (n:38) presentaven un perfil luminal A i un 30.6% (n:45) luminal B. Els grups minoritaris estaven formats pels subtipus luminal HER2, HER2 pur i TN.

El major percentatge de les pacients tenien histologia de carcinoma infiltrant de mama no especial (ductal), en concret el 89.8% (n:132). Respecte a l'estadiatge al diagnòstic només un 38.7% (n:57) era estadi III. Aproximadament un terç de les pacients (33.3% (n:49)) presentaven un GH III i ILV (36.7% (n:54)). El Ki-67 era alt en més de la meitat dels casos (56.5% (n:83)).

El CA 15.3 preoperatori només estava elevat en un 15% (n:22) de les mostres.

En quant a les mutacions de BRCA, només es van detectar un 4.8% (n:7): en el subtipus luminal 5 casos, en el subtipus luminal HER2 1 i en el TN 1 de significat incert (Taules 15 i 16).

CARACTERÍSTIQUES N=147	N (%)
SEXE	
Dona	146 (99.3%)
Home	1 (0.7%)
EDAT	
<40	22 (15%)
41-50	58 (39.5%)
51-60	29 (19.7%)
61-85	38 (25.8%)
Mitjana (rang)	50 (26-80)
ESTAT MENOPÀUSIC	
Premenopausa	77 (52.4%)
Postmenopausa	70 (47.6%)
RAÇA	
Caucàsica	142 (96.6%)
Negra	2 (1.36%)
Àrab	3 (2.04%)
PERFORMANCE STATUS	
0	137 (93.2%)
1	10 (6.8%)
ÍNDEX DE MASSA CORPORAL	
<25	55 (37.4%)
25-30	54 (36.7%)
≥ 30	33 (22.4%)
DIAGNÒSTIC	
Screening	17 (11.6%)
Autopalpació	130 (88.4%)
PERFIL IHQ	
Luminal A	38 (25.8%)
Luminal B	45 (30.6%)
Luminal HER2	26 (17.7%)
HER2	16 (10.1%)
Triple negatiu	22 (15%)

Taula 15. Característiques de les pacients (I).

CARACTERÍSTIQUES N=147	N (%)
HISTOLOGIA	
Carcinoma no especial (ductal)	132 (89.8%)
Lobel·lar	15 (10.2%)
TAMANY TUMORAL	
cT1	10 (6.8%)
cT2	78 (53.1%)
cT3	44 (30%)
cT4	15 (10.2%)
AFECTACIÓ GANGLIONAR	
cN0	42 (28.6%)
cN1	89 (60.5%)
cN2	7 (4.8%)
cN3	9 (5.4%)
ESTADIATGE	
II	90 (61.3%)
III	57 (38.7%)
GRAU HISTOLÒGIC	
Ben diferenciat (I)	18 (12.2%)
Moderadament diferenciat (II)	78 (53.1%)
Mal diferenciat (III)	49 (33.3%)
INVASIÓ LIMFÀTICA/VASCULAR	
Sí	54 (36.7%)
No	72 (49%)
Es desconeix	21 (14.3%)
INVASIÓ PERINEURAL	
Present	12 (8.2%)
Absent	104 (70.7%)
Es desconeix	31 (21.1%)
Ki-67	
<20	64 (43.5%)
≥20	83 (56.5%)
CA 15.3 PREOPERATORI	
<35	125 (85%)
≥35	22 (15%)
MUTACIÓ BRCA	
BRCA 1	2 (1.4%)
BRCA2	4 (2.7%)
Significat incert	1 (0.7%)
No	140 (95.2%)

Taula 16. Característiques de les pacients (II).

Referent al tipus de tractament, només un 8.8% (n:13) de les pacients va fer tractament amb antraciclins en monoteràpia; la resta, van rebre antraciclins i taxans seqüencials. De les 42 pacients amb tumors HER2, en un 97.6% (n:41) es va administrar trastuzumab neoadjuvant. La única pacient que no el va rebre va ser per un fals negatiu a la biòpsia pre QTNA i es va administrar un cop intervinguda.

Finalment, respecte al tipus de cirurgia, en la meitat es va poder realitzar una tumorectomia 54.4% (n:80). En els casos que es va realitzar una mastectomia, es van practicar tècniques d'oncoplàstia en un 21.8% (n:32). A nivell axil·lar, en un 94.6% (n:139) es va realitzar limfadenectomia i només en un 5.4% (n:8) BGS.

La radioteràpia es va administrar a una gran proporció dels casos, en un 92.5% (n:136) (Taula 17).

CARACTERÍSTIQUES N=147	N (%)
QT NEOADJUVANT	
Antraciclins	13 (8.8%)
Antraciclins i taxans	134 (91.2%)
TRACTAMENT LOCAL MAMA	
Tumorectomia	80 (54.4%)
Mastectomia	67 (45.6%)
Radioteràpia	136 (92.5%)
Reconstrucció	32 (21.8%)
TRACTAMENT LOCAL AIXELLA	
BGS	8 (5.4%)
Limfadenectomia	139 (94.6%)
LIMFADENECTOMIA	
Micrometàstasi	12 (8.6 %)
Macrometàstasi	127 (91.4%)
TRASTUZUMAB NEOADJUVANT EN EL GRUP HER2 N:42	
Sí	41 (97.6%)
No	1 (2.4%)

Taula 17. Tipus de tractament.

A la Fig. 23 està representat el tipus de cirurgia i el percentatge de pCR.

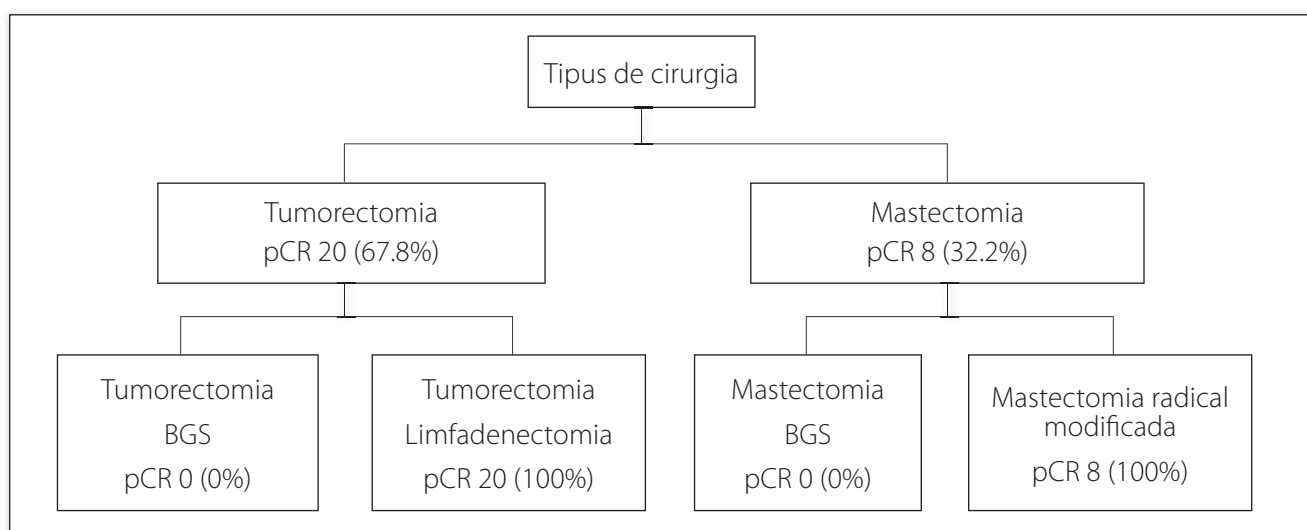


Fig. 23. Tipus de cirurgia i pCR.

En quant a l'IMC, el 67.3% (n:37) de les pacients amb un IMC <25 eren premenopàusiques mentre que en les pacients amb un IMC entre 25 i 30 ó ≥30, ho eren en un 44.4 i 42.4%, respectivament (p=0.023) (Taula 18).

	IMC <25	IMC 25-30	IMC ≥30	P
EDAT				
≤ 50	41 (74.5%)	26 (48.1%)	11 (33.3%)	0.001
> 50	14 (25.5%)	28 (51.9%)	22 (66.7%)	
MENOPAUSA				
Premenopàusica	37 (67.3%)	24 (44.4%)	14 (42.4%)	0.023
Postmenopàusica	18 (32.7%)	30 (55.6%)	19 (57.6%)	
PERFIL IHQ				
Luminal A	15 (27.3%)	13 (24.1%)	10 (30.3%)	0.659
Luminal B	18 (32.7%)	15 (27.8%)	10 (30.3%)	
Luminal BHER2	6 (10.9%)	13 (24.1%)	6 (18.2%)	
HER2	5 (9.1%)	7 (13%)	4 (12.1%)	
Triple negatiu	11 (20%)	6 (11.1%)	3 (9.1%)	
GRAU HISTOLÒGIC				
I	5 (9.1%)	8 (14.8%)	7 (21.3%)	0.151
II	28 (50.9%)	30 (55.6%)	18 (54.5%)	
III	22 (40%)	16 (29.6%)	8 (24.2%)	
TILS				
0-10%	34 (61.8%)	29 (53.7%)	24 (72.7%)	0.096
11-59%	12 (21.8%)	14 (25.9%)	9 (27.3%)	
>60%	9 (16.4%)	11 (20.4%)	0 (0%)	
QT NEOADJUVANT				
Antraciclins	7 (12.7%)	1 (1.9%)	4 (12.1%)	0.086
Antraciclins i taxans	48 (87.3%)	53 (98.1%)	29 (87.9%)	
pCR				
Sí	12 (21.8%)	10 (18.5%)	6 (18.2%)	0.882
No	43 (78.2%)	44 (81.5%)	27 (81.8%)	
RNL				
<3	29 (53.7%)	34 (62.96%)	20 (66.6%)	0.439
≥3	25 (46.3%)	20 (37.03%)	10 (33.4%)	
RECAIGUDA				
Sí	16 (29.1%)	10 (18.5%)	5 (15.2%)	0.234
No	39 (70.9%)	44 (81.5%)	28 (84.8%)	

Taula 18. Característiques de les pacients en funció del IMC.

Respecte a la resposta després de QTNA, un 19.05% (n:28) van obtenir pCR; d'aquestes, el percentatge més alt va ser al subtipus HER2 amb un 64.2% (n:18) vs. no pCR 20.2% (n:24), $p < 0.005$ (Taula 19).

	pCR	No pCR	P
LUMINAL A	0 (0%)	38 (31.9%)	< 0.005
LUMINAL B	2 (7.2%)	43 (36.1%)	
LUMINAL HER2	9 (32.1%)	17 (14.3%)	
HER2	9 (32.1%)	7 (5.9%)	
TRIPLE NEGATIU	8 (28.6%)	14 (11.8%)	

Taula 19. pCR en funció subtipus IHQ.

5.2.1- TILs:

El nivell de TILs es va analitzar abans de la cirurgia com una variable contínua i es van predefinir 3 categories de baix (0-10%), intermig (11- 59%) i alt ($\geq 60\%$) nivell de TILs com hem comentat anteriorment. El 59.9% (n:88) de les pacients presentaven baix nivell, 26.5% (n:39) intermig i 13.6% (n:20) alt.

El subtipus IHQ més freqüent en el nivell baix va ser el perfil luminal amb un 74.7% (n:62). Més de la meitat dels tumors HER2 presentaven nivells intermig-alt i els TN presentaven un 72.7% (n:16) d'alt nivell de TILs ($p < 0.001$).

En quant al grau histològic, dins el grau I un 81.9% (n:18) presentaven un baix nivell de TILs i més d'un 50% del GH III (n:19) presentaven TILs dins el grup intermig-alt. Un 81.25% (n:52) dels tumors amb Ki-67 < 20% tenien TILs baixos i un 56.7% (n:47) dels tumors amb Ki-67 ≥ 20% estaven al grup de TILs intermig o alt.

Referent a la pCR, 68% (n:81) de les pacients que no van fer pCR, estaven al grup de TILs baix i el 75% (n:21) de les que sí van fer pCR al grup intermig-alt (Taula 20).

	TILs Baix (0-10%)	TILs intermig (11-59%)	TILs alt (≥60%)	P
EDAT				
≤ 50	46 (52.3%)	23 (59%)	11 (55%)	0.376
≥ 50	42 (47.7%)	16 (41%)	9 (45%)	
ESTAT MENOPÀUSIC				
Premenopàusica	43 (48.9%)	23 (59%)	11 (55%)	0.557
Postmenopàusica	45 (51.1%)	16 (41%)	9 (45%)	
ÍNDEX MASSA CORPORAL				
<25	34 (39.1%)	12 (34.3%)	9 (45%)	0.096
25-30	29 (33.3%)	14 (40%)	11 (55%)	
≥30	24 (27.6%)	9 (25.7%)	0 (0%)	
GRAU HISTOLÒGIC				
I	18 (22.5%)	4 (14.8%)	0 (0%)	0.005
II	48 (60%)	10 (37%)	5 (45.5%)	
III	14 (17.5%)	13 (48.1%)	6 (54.5%)	
ESTADIATGE				
II	49 (55.7%)	26 (66.7%)	15 (75%)	0.199
III	39 (44.3%)	13 (33.3%)	5 (25%)	
Ki-67				
<20%	52 (59.1%)	8 (20.5%)	4 (20%)	<0.001
≥20%	36 (40.9%)	31 (79.5%)	16 (80%)	
ILV				
Present	36 (46.8%)	14 (42.4%)	4 (25%)	0.278
Absent	41 (53.2%)	19 (57.6%)	12 (75%)	
PERFIL IHQ I				
Luminal A	34 (38.6%)	3 (7.7%)	1 (5%)	<0.001
Luminal B	28 (31.8%)	13 (33.3%)	4 (20%)	
Luminal BHER2	14 (15.9%)	8 (20.5%)	4 (20%)	
HER2	6 (6.8%)	5 (12.8%)	5 (25%)	
Triple negatiu	6 (6.8%)	10 (25.6%)	6 (30%)	
TIPUS DE QTNA				
Antraciclins	10 (11.4%)	2 (5.1%)	1 (5%)	0.410
Antraciclins i taxans	78 (88.6%)	37 (94.9%)	19 (95%)	
ESQUEMA ANTRACICLINA				
Doxorubicina	15 (17.2%)	3 (7.7%)	5 (25%)	0.188
Epirubicina	72 (82.8%)	36 (92.3%)	15 (75%)	
ESQUEMA TAXÀ				
Paclitaxel	7 (9.1%)	8 (21.6%)	7 (36.8%)	0.009
Docetaxel	70 (90.9%)	29 (78.4%)	12 (63.2%)	
TRASTUZUMAB NEOADJUVANT EN EL GRUP HER2				
Sí	18 (94.7%)	13 (100%)	9 (100%)	0.552
No	1 (5.3%)	0 (0%)	0 (0%)	
PCR				
Sí	7 (8%)	11 (28.2%)	10 (50%)	<0.001
No	81 (92%)	28 (71.8%)	10 (50%)	

Taula 20. Característiques de les pacients en funció de TILs abans de la cirurgia.

A la Fig. 24, es mostra un diagrama de barres on es relaciona la pCR en funció dels TILs pre QTNA i el perfil IHQ exclouent el perfil luminal A. No està reflexat el subtipus Luminal B ja que només 2 pacients van aconseguir pCR.

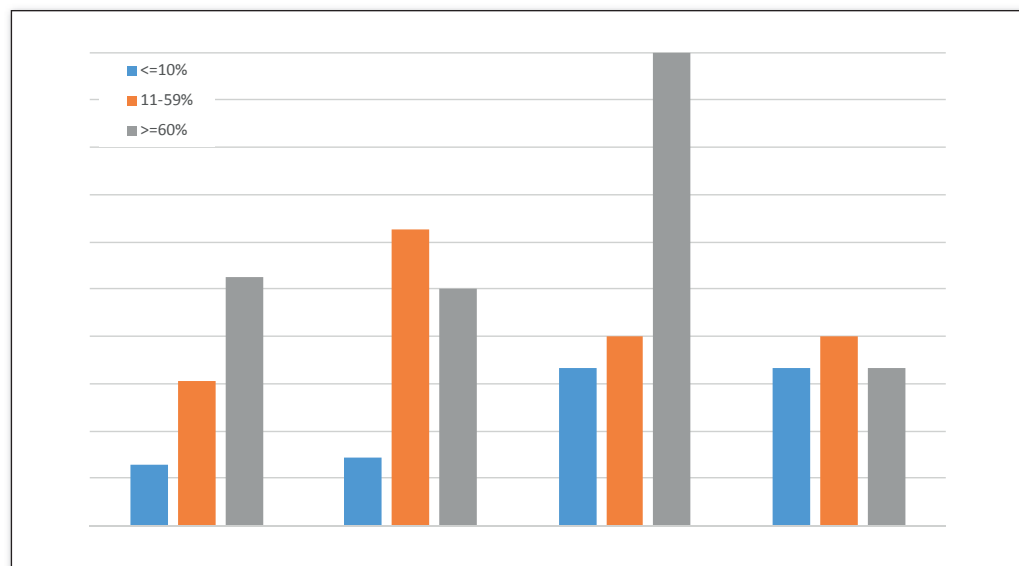


Fig. 24. pCR segons TILs pre QTNA i perfil IHQ

A la Taula 21 podem veure com els tumors amb un menor grau histològic, Ki-67<20% i perfils menys agressius (luminal A) són els que tenien menor percentatge de TILs abans de començar el tractament. De la mateixa manera, són aquests els que no presentaven pCR ($p < 0.05$).

De les 119 pacients que no van aconseguir una pCR, es va poder analitzar els TILs post QTNA (malaltia residual) en 117 pacients. En aquest escenari, nivells baixos de TILs s'associaven de manera estadísticament significativa a GH I-II (80.9%), Ki-67<20% (62.4%) i perfil IHQ luminal (76.5%).

	Pre QTNA				Post QTNA			
	TILs 0-10%	TILs 11-59%	TILs ≥ 60%	P	TILs 0-10%	TILs 11-59%	TILs ≥ 60%	P
IMC								
< 25	34(39.1%)	12 (34.3%)	9 (45%)	0.096	31 (37.8%)	10 (41.7%)	1(16.7%)	0.499
25-30	29 (33.3%)	14 (40%)	11 (55%)		29 (35.4%)	11(45.8%)	3 (50%)	
≥ 30	24 (27.6%)	9 (25.7%)	0(0%)		22 (26.8%)	3 (12.5%)	2 (33.3%)	
GRAU HISTOLÒGIC								
I	18 (22.5%)	4 (14.8%)	0 (0%)	0.005	19 (22.6%)	3 (11.5%)	0 (0%)	0.017
II	48 (60%)	10 (37%)	5 (45.5%)		49 (58.3%)	10 (38.5%)	3 (50%)	
III	14 (17.5%)	13(48.1%)	6 (54.5%)		16 (19%)	13 (50%)	3 (50%)	
Ki-67								
< 20%	52 (59.1%)	8 (20.5%)	4 (20%)	<0.001	53 (62.4%)	6 (23.1%)	2 (33.3%)	0.001
≥ 20%	36 (40.9%)	31(79.5%)	16 (80%)		32 (37.6%)	20 (76.9%)	4 (66.7%)	
PERFIL IHQ								
Luminal A	34 (38.6%)	3 (7.7%)	1(5%)	<0.001	34 (40%)	2 (7.7%)	2(33.3%)	0.019
Luminal B	28 (31.8%)	13 (33.3%)	4 (20%)		31 (36.5%)	11 (42.3%)	1 (16.7%)	
Luminal BHER2	14 (15.9%)	8 (20.5%)	4 (20%)		10 (11.8%)	6 (23.1%)	0 (0%)	
HER2	6 (6.8%)	5 (12.8%)	5 (25%)		4 (4.7%)	1 (3.8%)	1 (16.7%)	
Triple negatiu	6 (6.8%)	10(5.6%)	6 (30%)		6 7.1%)	6 (23.1%)	2 (33.3%)	
pCR								
Sí	7 (8%)	11 (28.2%)	10 (50%)	<0.001				
No	81(92%)	28 (71.8%)	10 (50%)					

Taula 21. Associació entre TILs pre QTNA i post QTNA i paràmetres clínicopatològics.

5.2.2- Receptor androgènic

Respecte els RA, un 91.2% (n:134) presentaven RA \geq 1%. La distribució de subtipus IHQ era diferent en funció dels RA per sobre i per sota de l'1% ($p < 0.001$). Un 77.6% (n:104) dels RE presentaven RA \geq 1% i un 62.7% (n:84) dels RPg ($p = 0.005$ i $p < 0.001$, respectivament). Els RA \geq 1% tenien un Ki-67 alt en un 86.2% (n:72) (Taula 22).

	RA <1%	RA \geq 1%	P
EDAT			
\leq 50	7 (53.8%)	70 (52.2%)	0.573
> 50	6 (46.2%)	64 (47.8%)	
HISTOLOGIA			
Ductal	12 (92.3%)	122 (91%)	0.924
Lobel·lar	1 (7.7%)	12 (9%)	
GRAU HISTOLÒGIC			
I	1 (10%)	21 (19.4%)	0.062
II	3 (30%)	60 (55.6%)	
III	6 (60%)	27 (25%)	
RECEPTOR ESTROGEN			
Negatiu	8 (61.5%)	30 (22.4%)	0.005
Positiu	5 (38.5%)	104 (77.6%)	
RECEPTOR PROGESTERONA			
Negatiu	12 (92.3%)	50 (37.3%)	< 0.001
Positiu	1 (7.7%)	84 (62.7%)	
HER2			
Negatiu	11 (84.6%)	94 (70.1%)	0.223
Positiu	2 (15.4%)	40 (29.9%)	
Ki-67			
<20%	2 (15.4%)	62 (46.3%)	0.028
\geq 20%	11 (84.6%)	72 (53.7%)	
SUBTIPUS IHQ			
Luminal A	0 (0%)	38 (28.4%)	<0.001
Luminal B	4 (30.8%)	41 (30.6%)	
Luminal HER2	1 (7.7%)	25 (18.7%)	
HER2	1 (7.7%)	15 (11.2%)	
Triple negatiu	7 (53.8%)	15 (11.2%)	
pCR			
Si	3 (23.1%)	25 (18.7%)	0.467
No	10 (76.9%)	109 (81.3%)	

Taula 22. Característiques de les pacients en funció del RA < ó \geq 1%.

A l'analitzar els RA en $< 10\%$ vs. $\geq 10\%$ també vam diferències estadísticament significatives en quan als RE, RP, Ki-67, perfil IHQ i pCR (com podem observar a la Taula 23).

	RA $< 10\%$	RA $\geq 10\%$	P
EDAT			
≤ 50	12 (60%)	64 (50.8%)	0.312
> 50	8 (40%)	62(49.2%)	
HISTOLOGIA			
Ductal	18 (90%)	115 (90.6%)	0.922
Lobel·lar	2 (10%)	12 (9.4%)	
GRAU HISTOLÒGIC			
I	1 (8.3%)	21 (19.8%)	0.180
II	5 (41.7%)	58 (54.7%)	
III	6 (50%)	27 (25.5%)	
RECEPTOR ESTROGEN			
Negatiu	13 (65%)	25 (19.7%)	<0.001
Positiu	7 (35%)	102 (80.3%)	
RECEPTOR PROGESTERONA			
Negatiu	17 (85%)	45 (35.4%)	<0.001
Positiu	3 (15%)	82(64.6%)	
HER2			
Negatiu	15 (75%)	90 (70.9%)	0.466
Positiu	5 (25%)	37 (29.1%)	
Ki-67			
< 20	3 (15%)	61(48%)	0.004
$\geq 20\%$	17 (85%)	66 (52%)	
SUBTIPUS IHQ			
Luminal A	1 (5%)	37(29.1%)	<0.001
Luminal B	4 (20%)	41(32.3%)	
Luminal HER2	2 (10%)	24 (18.9%)	
HER2	3 (15%)	13(10.2%)	
Triple negatiu	10 (50%)	12 (9.4%)	
pCR			
No	11 (55%)	108 (85%)	0.004
Sí	9 (45%)	19 (15%)	

Taula 23. Característiques de les pacients en funció del RA < 0 $\geq 10\%$.

Quan vam classificar els RA en 3 subgrups (<1%, 1-10%, ≥10%), els RE, RPg, el Ki-67 i el perfil luminal (A i B) tornaven a ser estadísticament significatius. De les pacients amb una RA ≥ 10% un 90.7% (n:108) no van aconseguir una pCR respecte un 67.8% que sí van aconseguir-ho (p<0.001) (Taula 24).

	RA <1%	RA 1-10%	RA ≥ 10%	P
EDAT				
≤ 50	7 (53.8%)	5 (71.4%)	64 (50.8%)	0.563
> 50	6 (46.2%)	2 (28.6%)	62 (49.2%)	
RECEPTOR ESTROGEN				
Negatiu	8 (61.5%)	5 (71.4%)	25 (19.8%)	<0.001
Positiu	5 (38.5%)	2 (28.6%)	101 (80.2%)	
RECEPTOR PROGESTERONA				
Negatiu	12 (92.3%)	5 (71.4%)	45 (35.7%)	< 0.001
Positiu	1 (7.7%)	2 (28.6%)	81 (64.3%)	
HER2				
Negatiu	11 (84.6%)	4 (57.1%)	90 (71.4%)	0.405
Positiu	2 (15.4%)	3 (42.9%)	36 (28.6%)	
KI-67				
Negatiu	2 (15.4%)	1 (14.3%)	60 (47.6%)	0.024
Positiu	11 (84.6%)	6 (85.7%)	66 (52.4%)	
SUBTIPUS IHQ				
Luminal A	0 (0%)	1 (14.3%)	37 (29.4%)	< 0.001
Luminal B	4 (30.8%)	0 (0%)	41 (32.5%)	
Luminal HER2	1 (7.7%)	1 (14.3%)	23 (18.3%)	
HER2	1 (7.7%)	2 (28.6%)	13 (10.3%)	
Triple negatiu	7 (53.8%)	3 (42.9%)	12 (9.5%)	
pCR				
Sí	3 (23.1%)	6 (85.7%)	19 (15.1%)	< 0.001
No	10 (76.9%)	1 (14.3%)	108 (84.9%)	

Taula 24. Característiques de les pacients en funció del RA en 3 categories (<1%, 1-10%, ≥10%).

Quan vam analitzar les 22 pacients amb CMTN en funció RA <1% vs. ≥1%, de les que no van aconseguir pCR, un 64.3% (n:9) eren RA positius sense presentar significació estadística (Taula 25).

	CMTN RA <1%	CMTN RA ≥ 1%	P
Ki-67			
Negatiu	0 (0%)	2 (13.3%)	0.455
Positiu	7 (100%)	13 (86.7%)	
pCR			
Sí	2 (28.6%)	6 (40%)	0.490
No	5 (71.4%)	9 (60%)	

Taula 25. Característiques de les pacients diagnosticades de CMTN en funció del del RA <1% vs. ≥1%.

A l'analitzar-ho en funció de RA <10% vs. ≥10%, tampoc es van observar diferències estadísticament significatives (Taula 26).

	CMTN RA <10%	CMTN RA ≥10%	P
Ki-67			
Negatiu	1 (10%)	2 (16.7%)	0.386
Positiu	9 (90%)	10 (83.3%)	
pCR			
Sí	2(20%)	3 (25%)	0.634
No	8 (80%)	9 (75%)	

Taula 26. Característiques de les pacients diagnosticades de CMTN en funció del RA <10% vs. ≥10%.

5.2.3- Ràtio neutròfil/ limfòcit

En un 97.3% (n:143) de les pacients de la mostra es va poder calcular la RNL previ a l'inici de la QTNA. Un 78.6% (n:22) de les pacients que van aconseguir una pCR, tenien una RNL<3 (p=0.026) respecte un 55.6% dels que no van aconseguir una pCR (Taula 27).

	RNL BAIX <3	RNL ALT ≥3	P
EDAT			
≤ 50	48 (55.8%)	32 (56.2%)	0.155
> 50	38 (44.2%)	25 (43.8%)	
IMC			
<25	29 (34.9%)	25 (45.5%)	0.439
25-30	34 (41%)	20 (36.4%)	
≥ 30	20 (24.1%)	10 (18.2%)	
GRAU HISTOLÒGIC			
I	9 (14.3%)	11 (21.6%)	0.346
II	38 (60.3%)	24 (47.1%)	
III	16 (25.4%)	16 (31.4%)	
KI-67			
<20	33 (38.4%)	29 (50.9%)	0.096
≥20	53 (61.6%)	28 (49.1%)	
SUBTIPUS IHQ			
Luminal A	20 (23.3%)	16 (28.1%)	0.110
Luminal B	20 (23.3%)	23 (40.4%)	
Luminal HER2	19 (22.1%)	7 (12.3%)	
HER2	12 (14%)	4 (7%)	
Triple negatiu	15 (17.4%)	7 (12.3%)	
PCR			
Sí	22 (25.6%)	6 (10.5%)	0.026
No	64 (74.4%)	51 (89.5%)	

Taula 27. Característiques de les pacients en funció de la RNL.

En els 22 casos de CMTN es va analitzar la RNL <3 vs. ≥3 com es mostra a la Taula 28.

	CMTN RNL<3	CMTN RNL ≥3	P
EDAT			
≤ 50	10 (66.7%)	3 (42.8 %)	0.122
>50	5 (33.3%)	4 (57.2%)	
GRAU HISTOLÒGIC			
II	3 (30%)	0 (0%)	0.171
III	7 (70%)	5 (100%)	
KI-67			
<20	1 (6.7%)	1 (14.3%)	0.563
≥20	14 (93.3%)	6 (85.7%)	
PCR			
Sí	6 (40%)	2 (28.6%)	0.082
No	9 (60%)	5 (71.4%)	

Taula 28. Característiques de les pacients CMTN en funció de la RNL.

Es va fer una correlació entre el nivell de TILs i la RNL; els primers com representants de la immunitat local i els segons de la immunitat sistèmica sense trobar diferències estadísticament significatives com es mostra a la Taula 29.

TILs	RNL<3	RNL>3	P
0-10%	48 (55.8%)	38 (66.7%)	0.423
11-60%	25 (29.1%)	13 (22.8%)	
>60%	13 (15.1%)	6 (10.5%)	

Taula 29. Correlació de la RNL i TILs en el microambient tumoral.

A la Taula 30 es descriu la relació entre el nivell de TILs, la RNL i característiques clínicopatològiques de les pacients amb CMTN. Només es van observar diferències estadísticament significatives en la pCR.

	RNL <3	RNL ≥ 3	P	TILs <10%	TILs 10-60%	TILs >60%	p
EDAT							
≤ 50	9 (60%)	3 (42.9%)	0.452	4 (66.7%)	4 (40%)	4 (66.7%)	0.457
>50	6 (40%)	4 (57.1%)		2 (33.3%)	6 (60%)	2 (33.3%)	
ESTADIATGE							
II	8 (53.3%)	4 (57.1%)	0.867	2 (33.3%)	6 (60%)	4 (66.7%)	0.457
III	7 (46.7%)	3 (42.9%)		4 (66.7%)	4 (40%)	2 (33.3%)	
GRAU HISTOLÒGIC							
II	5(33.3%)	0(0%)	0.221	1 (16.7%)	3 (30%)	1 (16.7%)	0.851
III	10 (66.7%)	7 (100%)		5 (83.3%)	7 (70%)	5 (83.3%)	
pCR							
Sí	22 (25.6%)	6 (10.5%)	0.026	7(8%)	11 (28.2%)	10 (50%)	<0.001
No	64 (74.4%)	51 (89.5%)		81 (92%)	28 (71.8%)	10 (50%)	

Taula 30. Comparació de les característiques clínicopatològiques de les pacients amb CMTN entre TILs i la RNL.

5.2.4- Seguiment

La mitjana de seguiment des de la cirurgia fins a la mort, últim control o data de tall (desembre 2020) va ser 105.7 mesos (11.6 mesos-228 mesos (19 anys)).

Durant el seguiment es van diagnosticar 22,4% (n: 33) recaigudes: 4,8% (n:7) locals i 17,7% (n: 26) a distància (Taula 31).

LOCALITZACIÓ	N (%)	LUMINAL A	LUMINAL B	LUMINAL B HER2	HER2	TRIPLE NEGATIU
Locoregional	7 (4.8%)	1 (14.3%)	3 (42.8%)	0 (0%)	1 (14.3%)	2 (28.6%)
Pulmonar	14 (9.5%)	2 (14.3%)	6 (42.9%)	2 (14.3%)	1 (7.1%)	3 (21.4%)
Hepàtica	12 (8.2%)	2 (16.7%)	5 (41.7%)	1 (8.3%)	1 (8.3%)	3 (25%)
Òssia	20 (13.6%)	3 (15%)	9 (45%)	5 (25%)	0 (0%)	3 (15%)
Ganglionar	11(7.5%)	1 (9.1%)	5 (45.5%)	3 (27.3%)	0 (0%)	2 (18.2%)
Parts toves	3 (2%)	0 (0%)	2 (66.7%)	1 (33.3%)	0 (0%)	0 (0%)
Cutània	3 (2%)	0 (0%)	1 (33.3%)	0 (0%)	1(33.3%)	1 (33.3%)
SNC	6 (4.1%)	0 (0%)	2 (33.3%)	2 (33.3%)	0 (0%)	2 (33.3%)
Altres	4 (2.8%)	1 (25%)	3 (75%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

Taula 31. Localització de les progressions en funció del subtipus IHQ.

5.3- Supervivència global

La SG dels pacients de l'estudi (n=147) a 3 anys és del 94% amb un interval de confiança del 95% (90.2, 97.8) i als 5 anys 91% IC 95% (86.4, 95.6).

Unes 27 pacients (18.4%) de l'estudi van ser exitus durant el seguiment, de les quals 23 (15.6%) la causa va ser el càncer de mama.

5.4- Anàlisi de supervivència

5.4.1- Anàlisi de supervivència en funció de pCR

Respecte la SLM i SG en funció de pCR, les pacients que aconseguen una pCR tenen una millor SLM ($p=0.052$) i SG ($p=0.034$) (Fig.25 i Fig. 26).

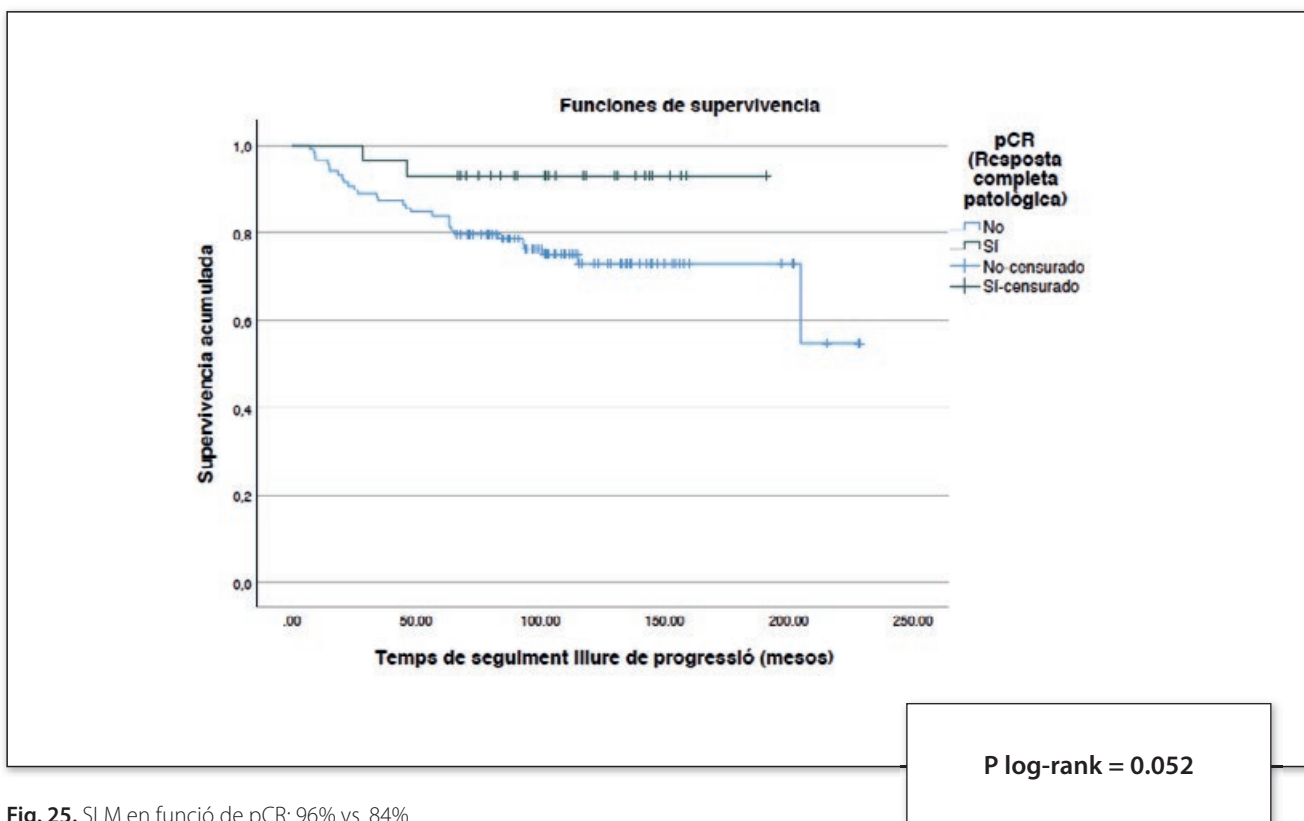


Fig. 25. SLM en funció de pCR: 96% vs. 84%

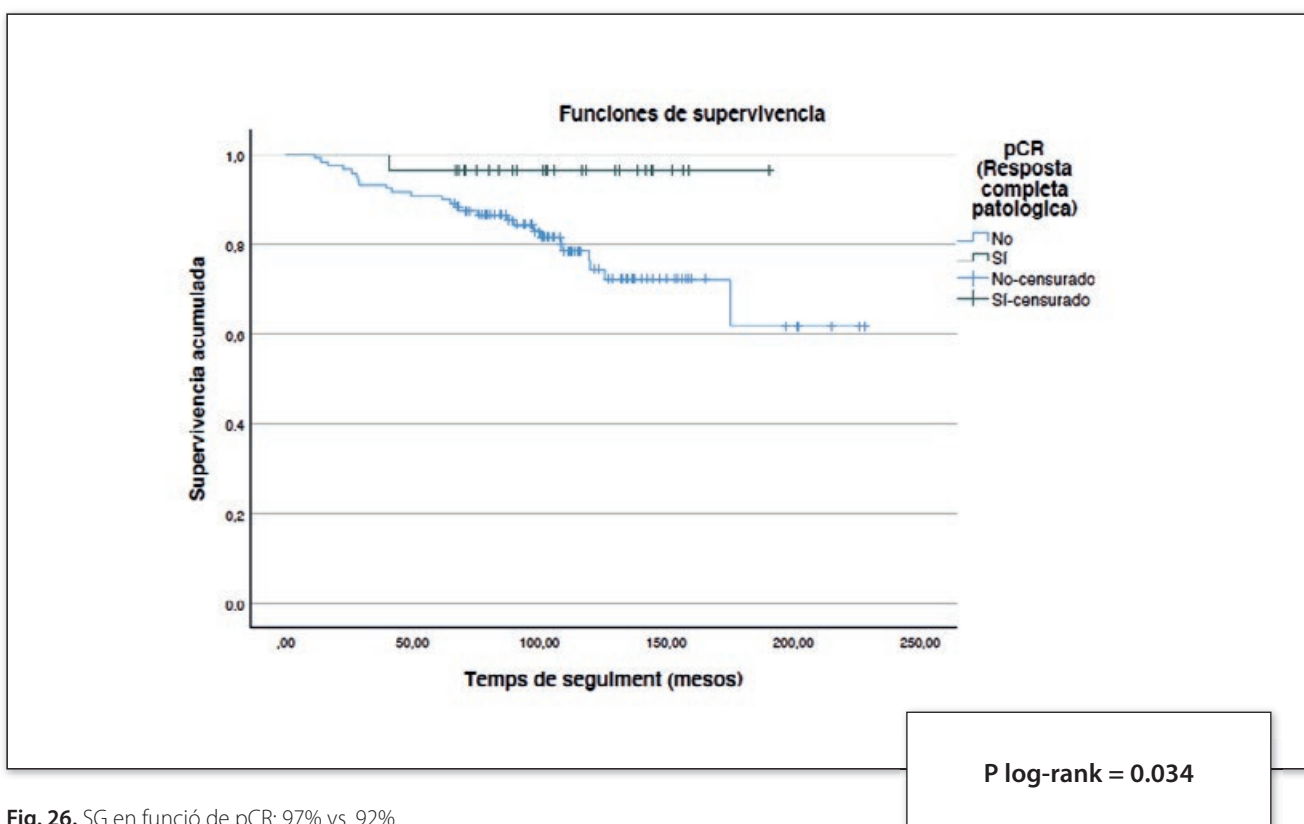


Fig. 26. SG en funció de pCR: 97% vs. 92%.

La pCR no presenta diferències en SLM estadísticament significatives en els subtipus luminal B, luminal B HER2 i HER2 pur (Fig. 27-29) però sí en el CMTN ($p=0.022$) (Fig. 30).

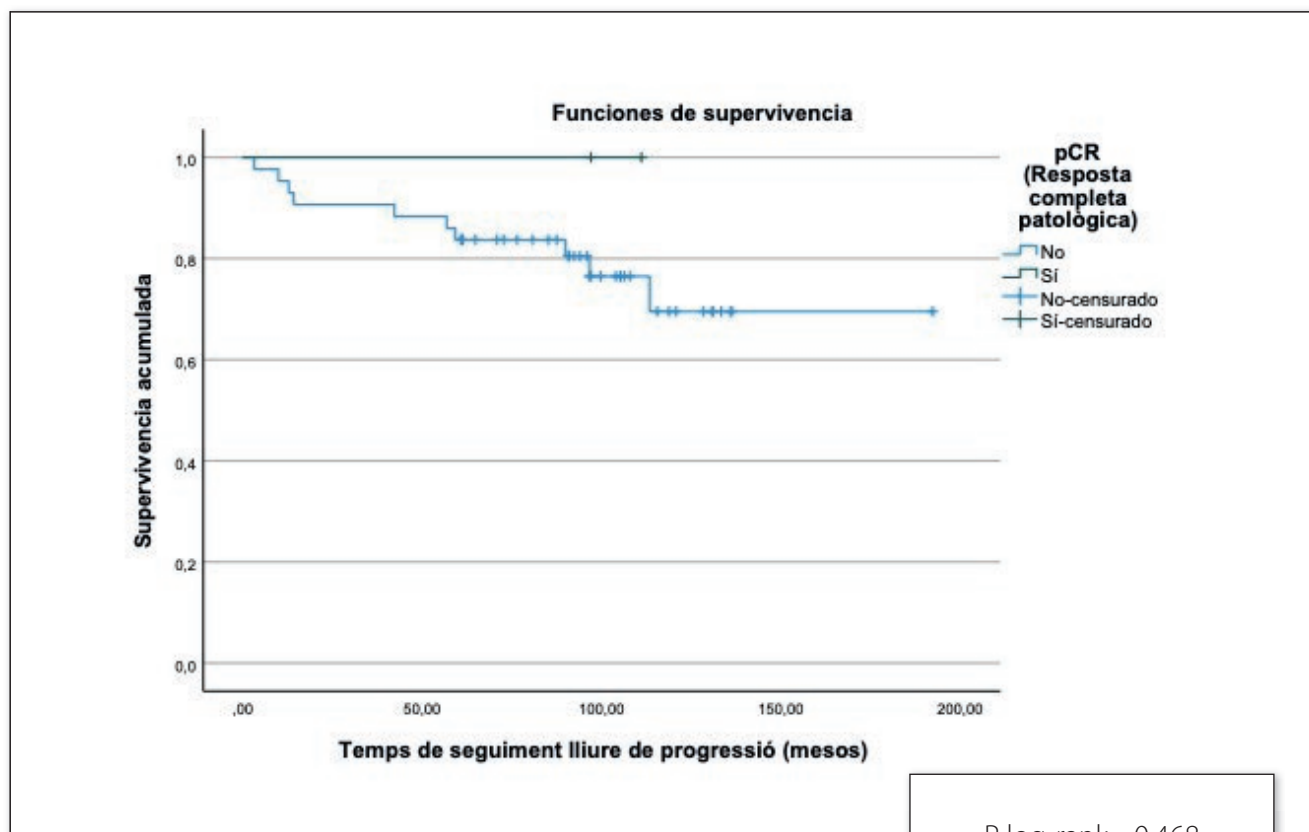


Fig. 27. SLM en funció de pCR en el subtipus luminal B: 100% vs. 88%.

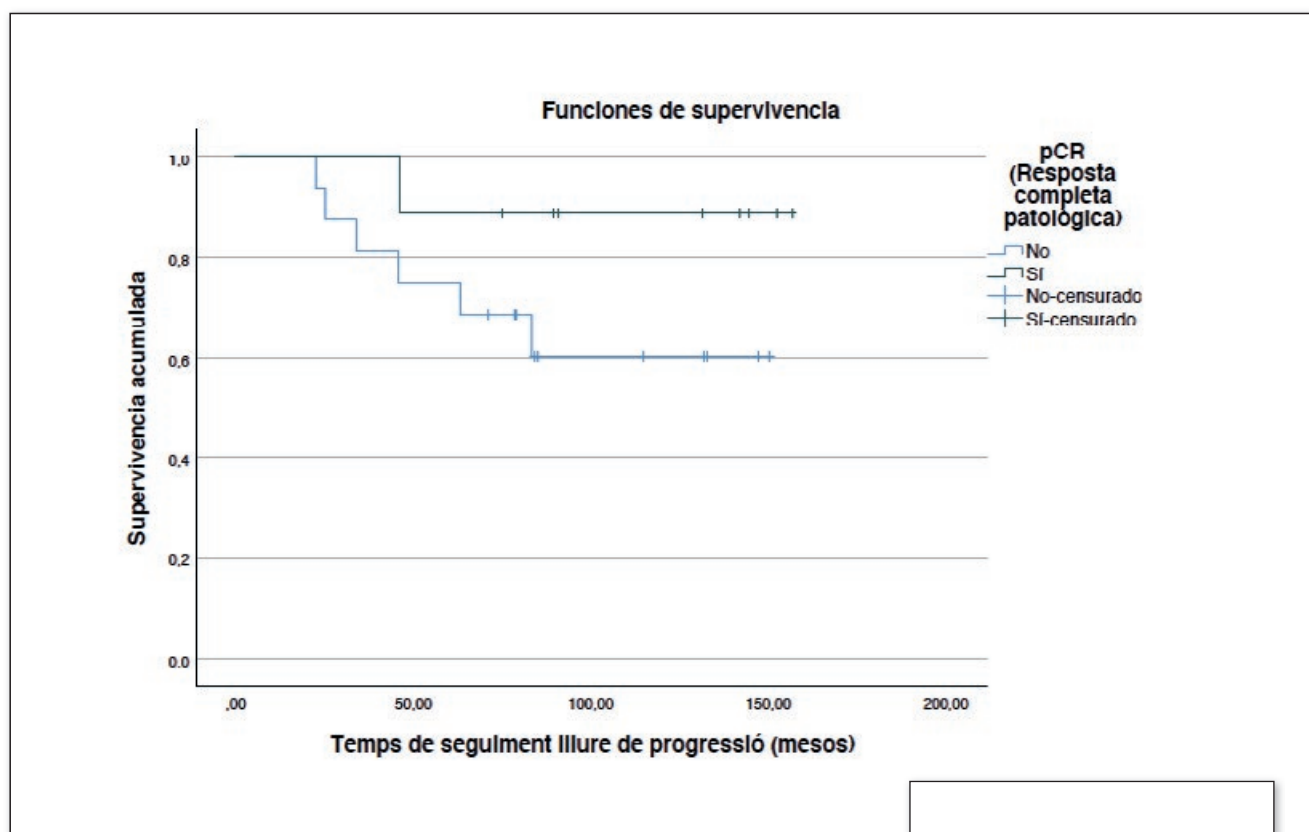


Fig. 28. SLM en funció pCR en el subtipus luminal B HER2: 89% vs. 76%.

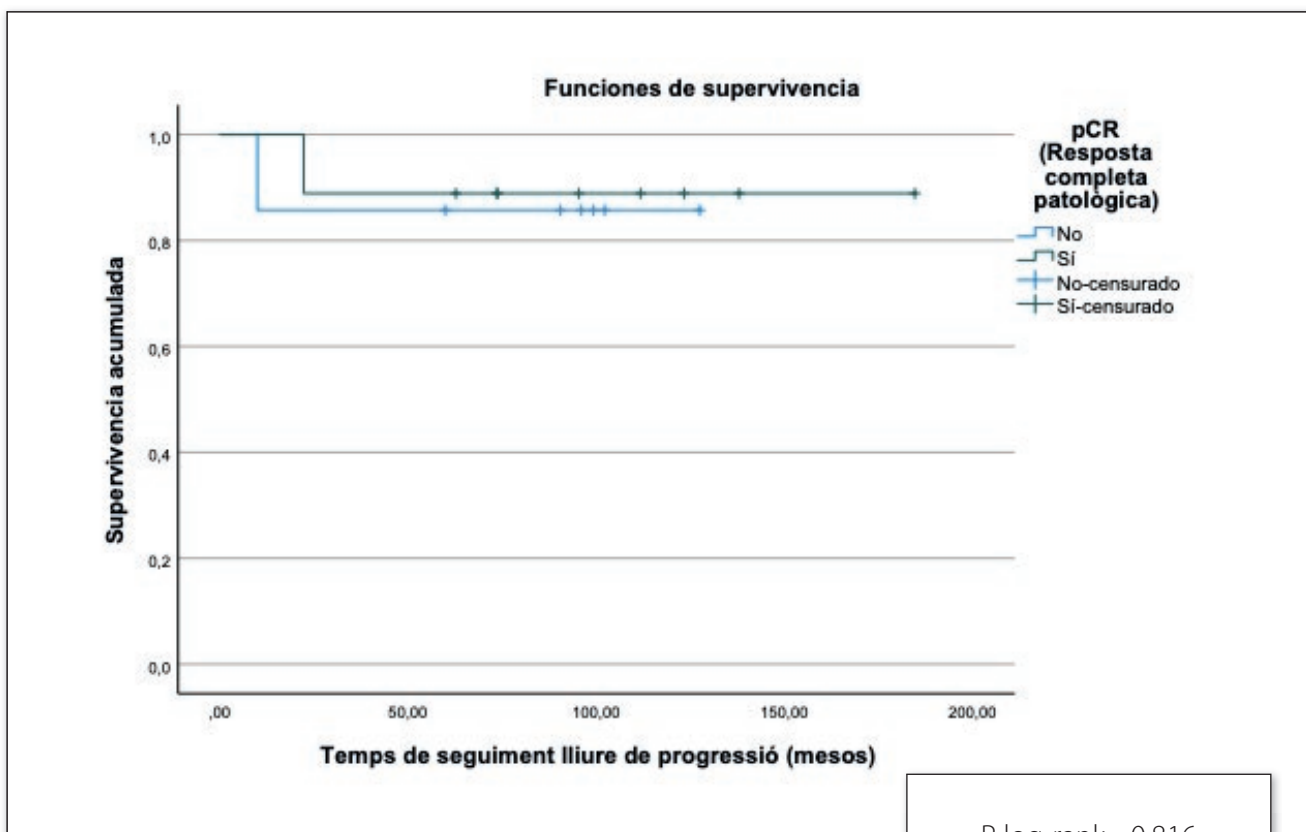


Fig.29. SLM en funció pCR en el subtipus HER2: 90% vs. 87%.

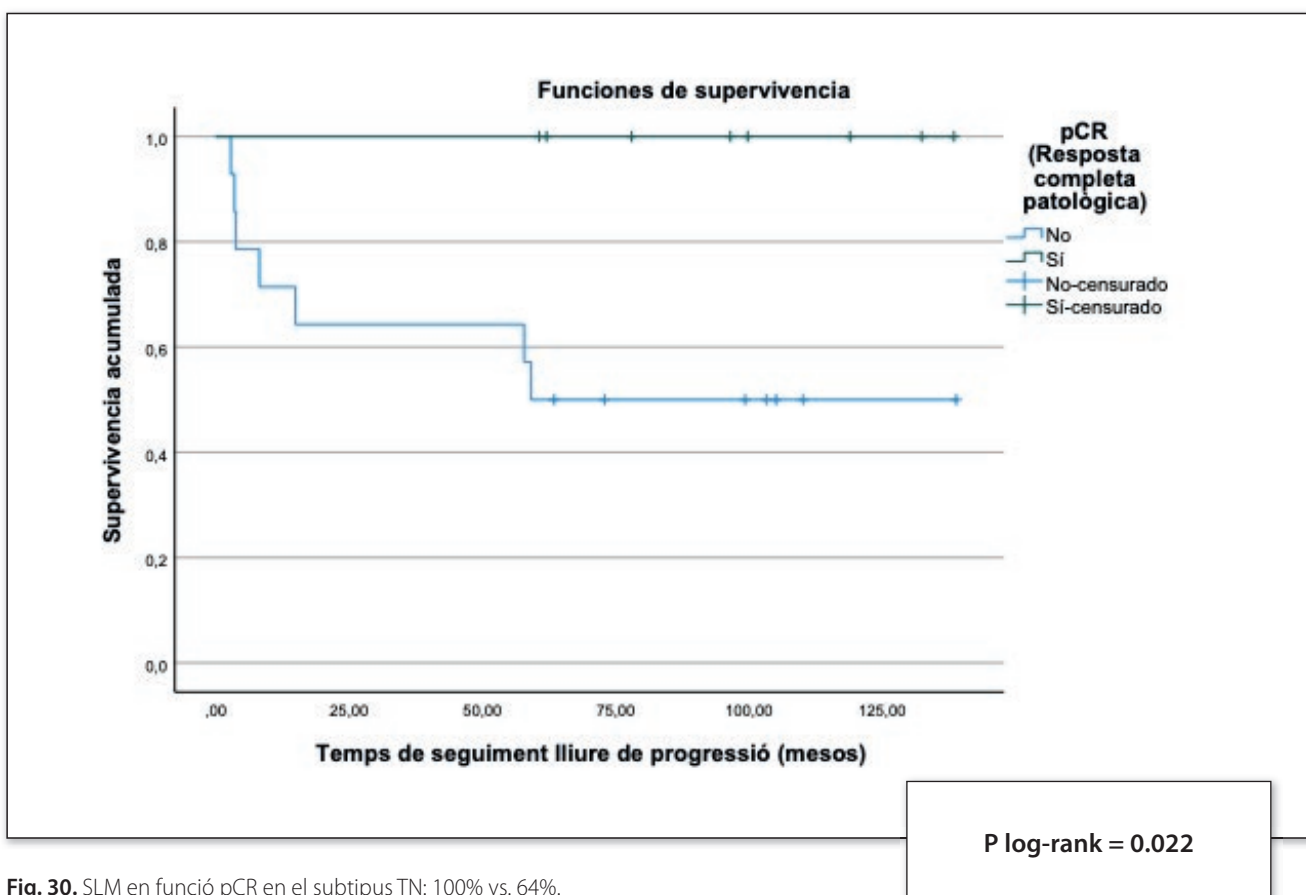


Fig. 30. SLM en funció pCR en el subtipus TN: 100% vs. 64%.

Per SG tampoc es van veure diferències segons la pCR en els subtipus luminal B, luminal B HER2, HER2 (Fig. 31-33) però sí en el CMTN ($p=0.012$) (Fig. 34).

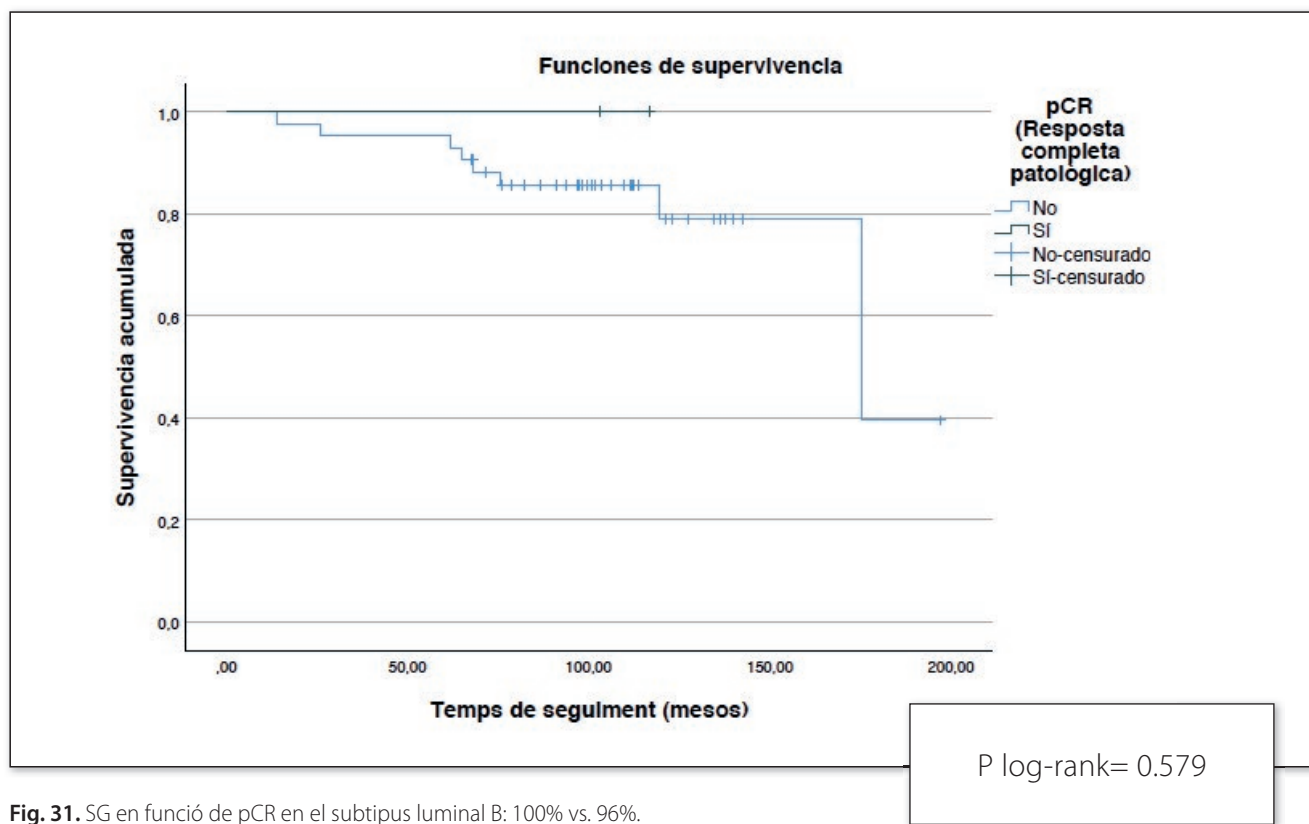


Fig. 31. SG en funció de pCR en el subtipus luminal B: 100% vs. 96%.

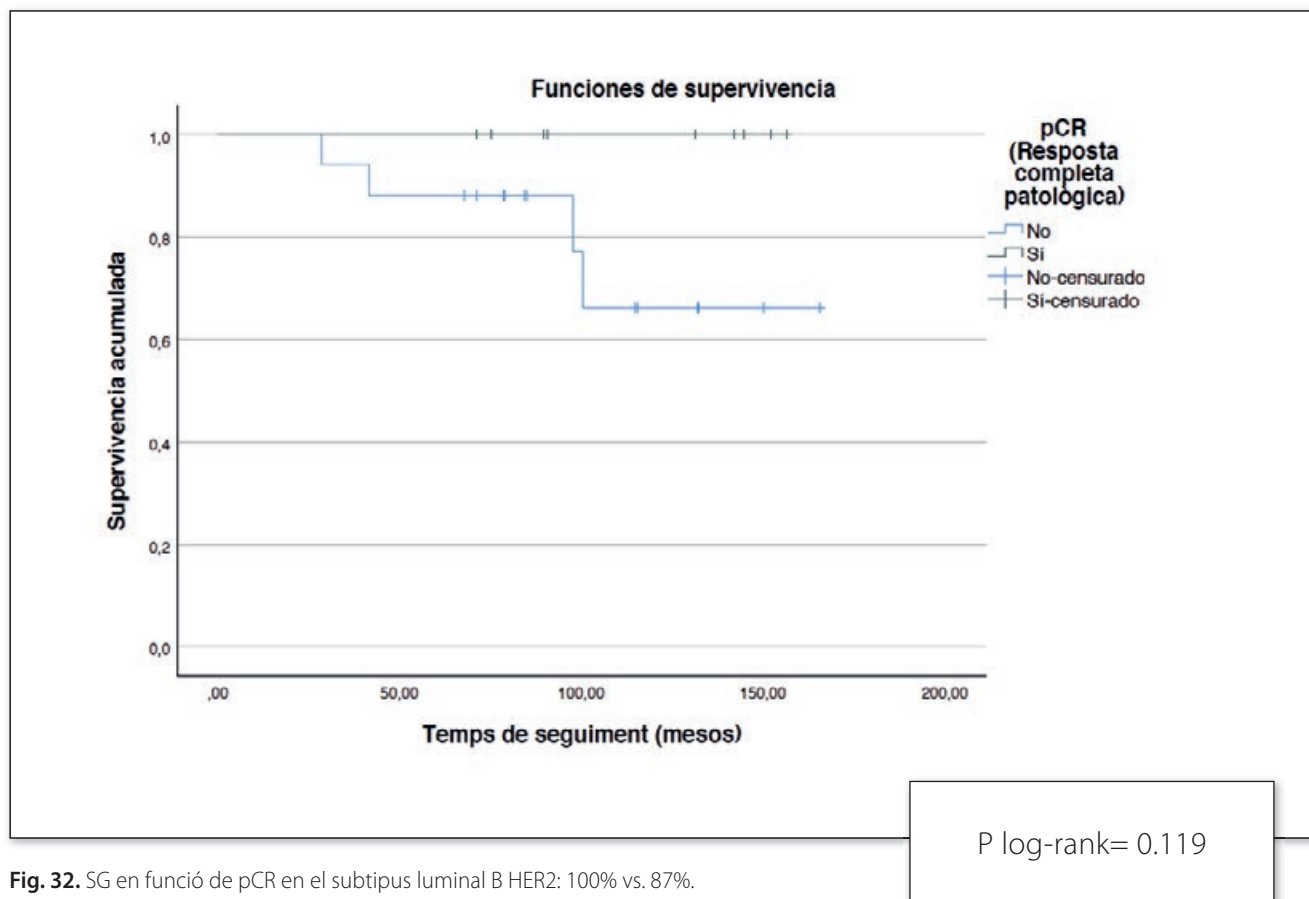


Fig. 32. SG en funció de pCR en el subtipus luminal B HER2: 100% vs. 87%.

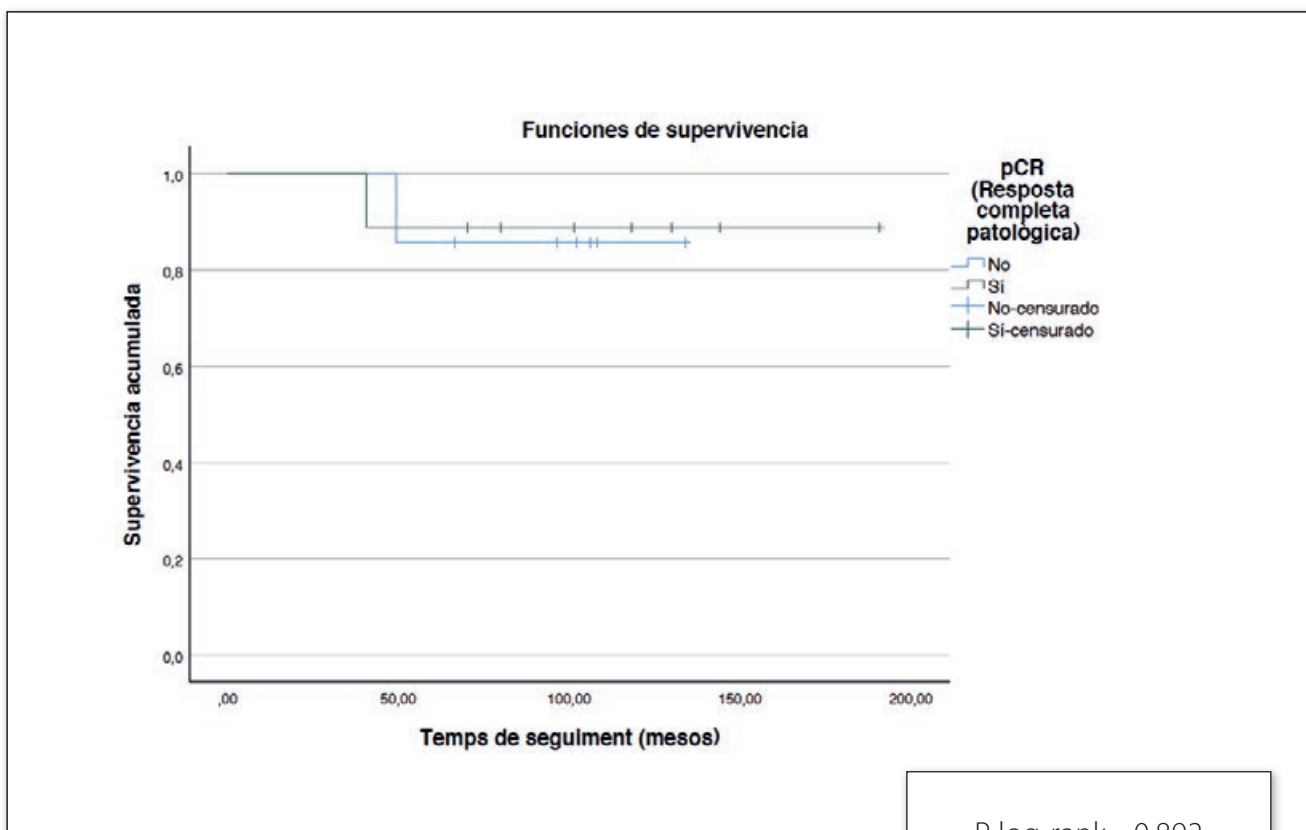


Fig.33. SG en funció de pCR en el subtipus HER2: 89% vs. 85%.

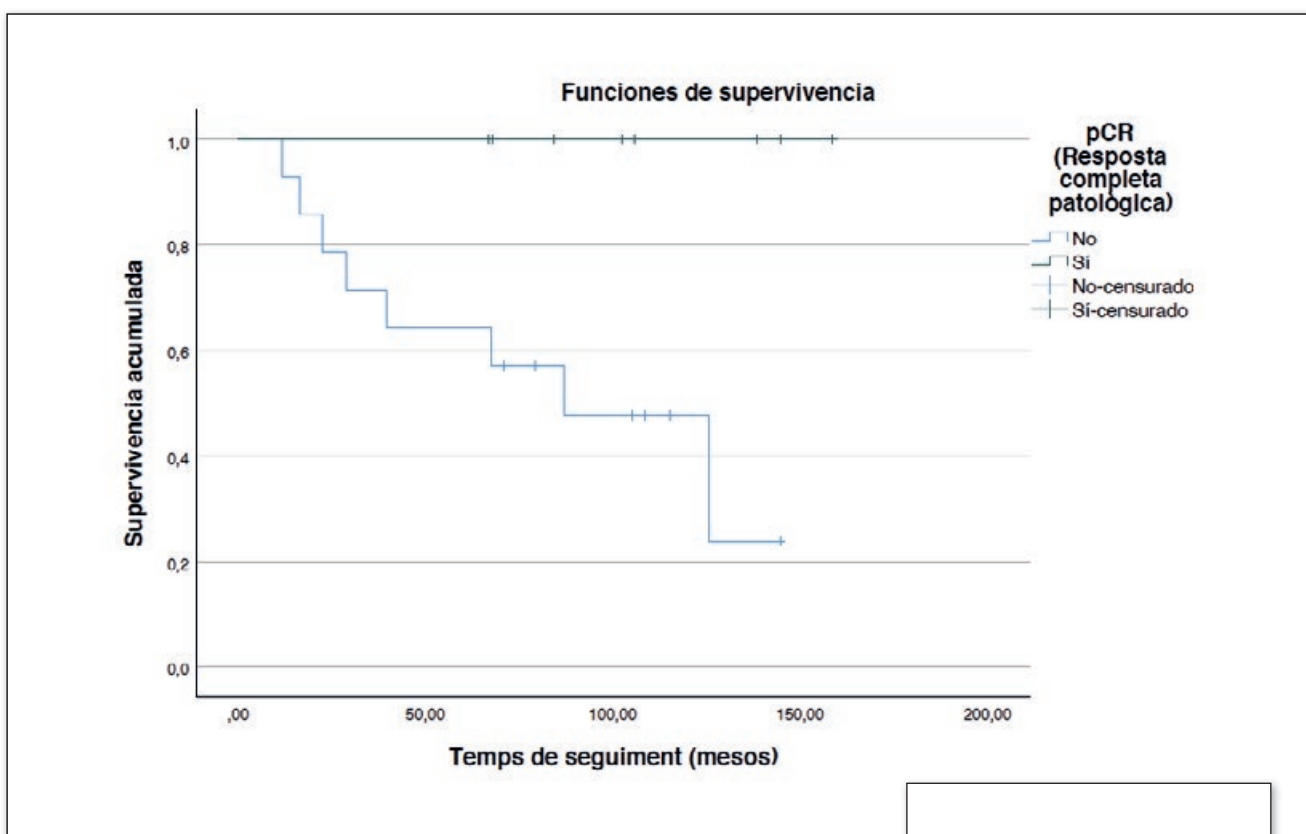


Fig.34. SG en funció de pCR en el subtipus TN: 100% vs. 64%.

5.4.2- Anàlisi de supervivència en funció dels TILs pre QTNA i post QTNA

TILs pre QTNA i SLM: El nivell de TILs no presenta diferències en SLM estadísticament significatives ni en el global ni per subtipus IHQ (Fig. 35-39).

SLM als 5 anys en funció de TILs global excepte luminal A (78%TILs 0-10% vs. 82%TILs 11-59% vs. 83% TILs \geq 60%) (Fig. 35).

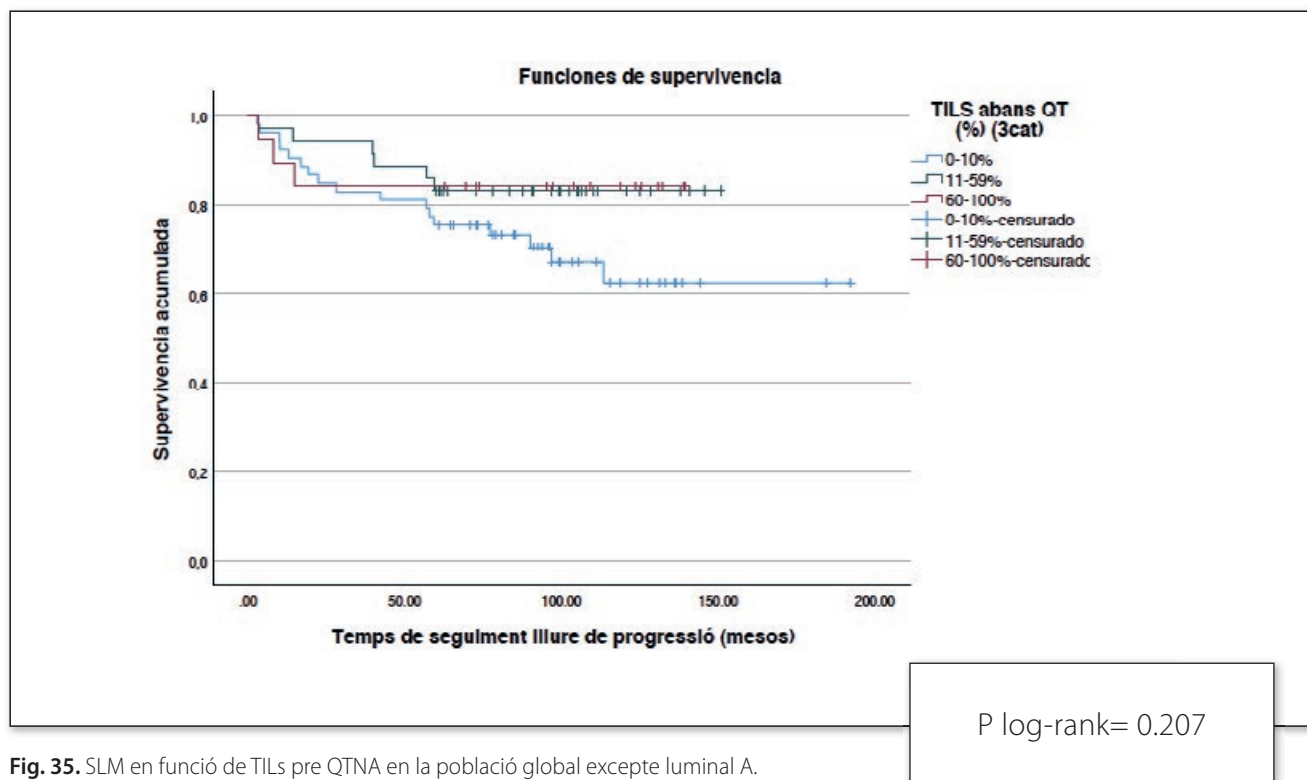


Fig. 35. SLM en funció de TILs pre QTNA en la població global excepte luminal A.

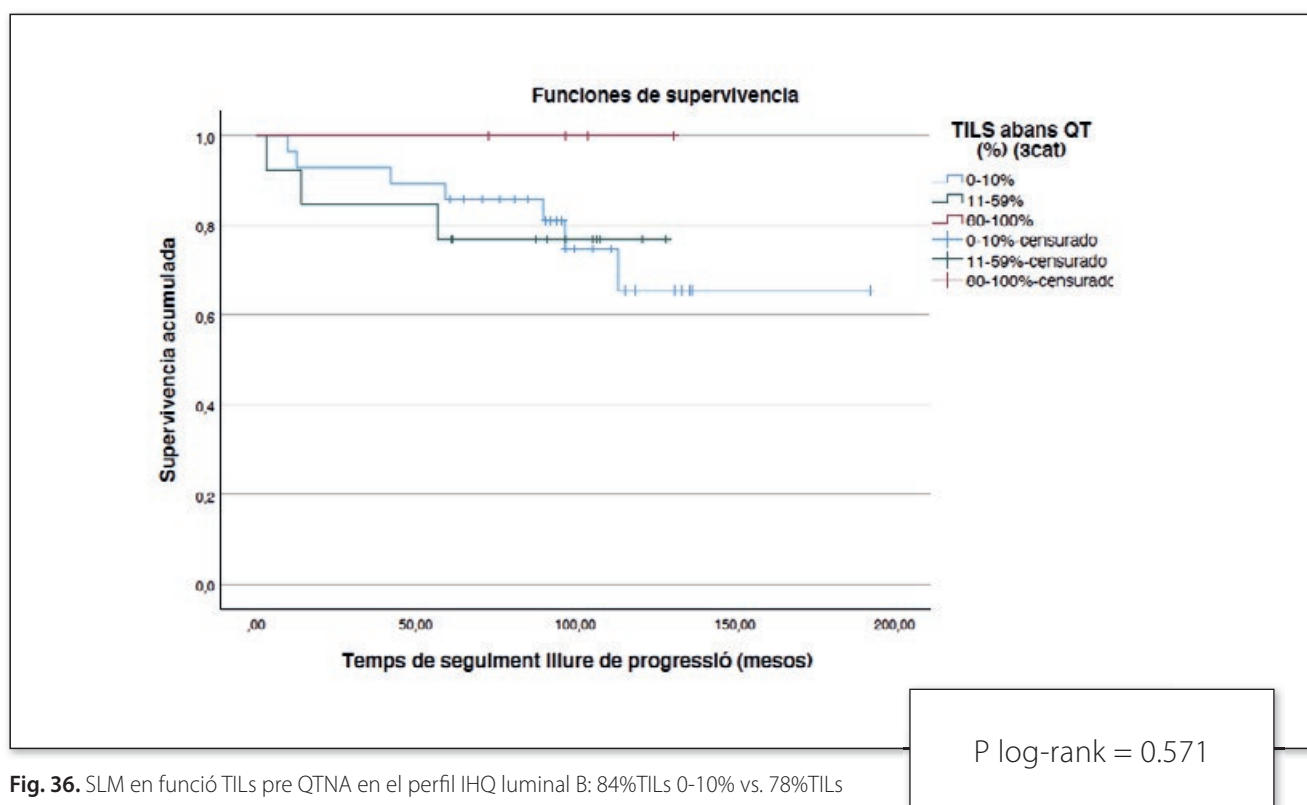


Fig. 36. SLM en funció TILs pre QTNA en el perfil IHQ luminal B: 84%TILs 0-10% vs. 78%TILs 11-59% vs.100% TILs \geq 60%.

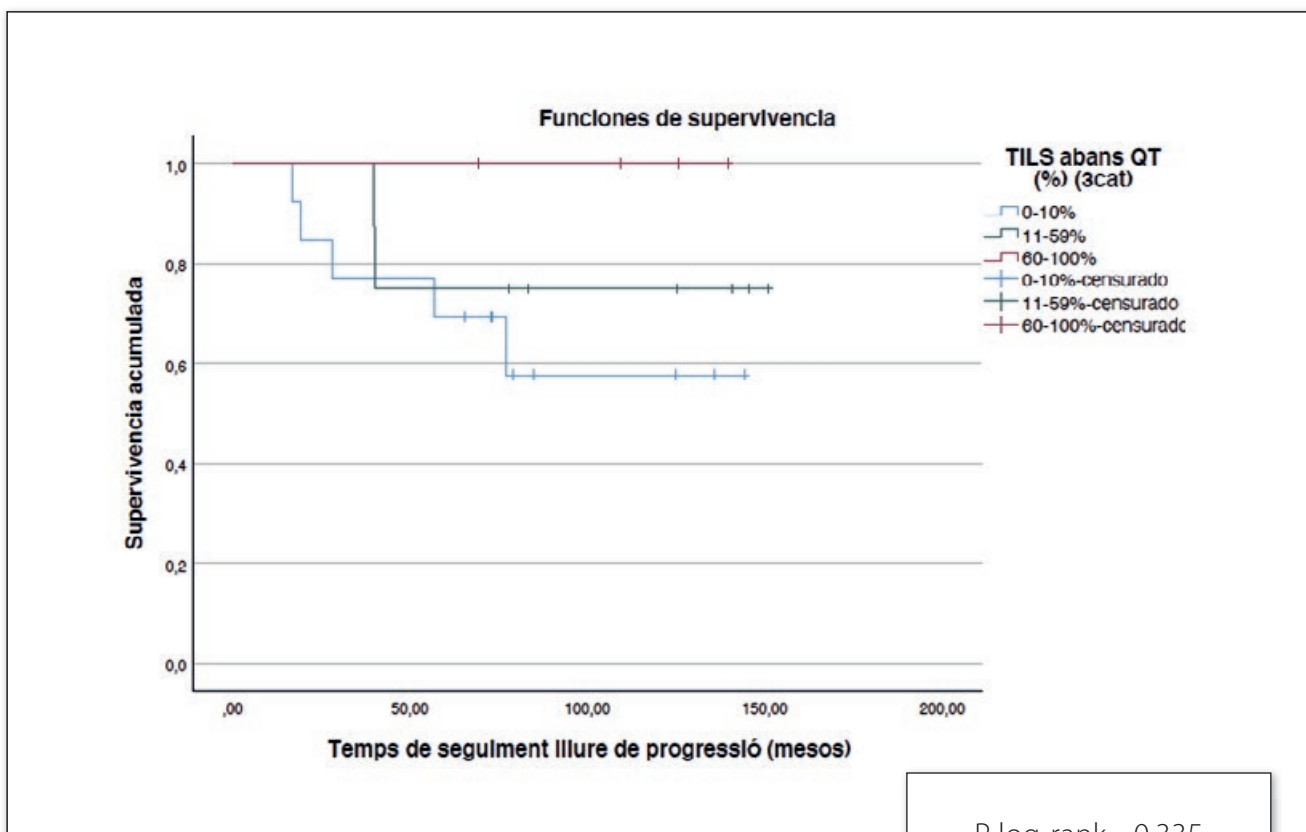


Fig. 37. SLM en funció de TILs pre QTNA en el perfil IHQ luminal B HER2: 70% TILs 0-10% vs. 76% TILs 11-59% vs. 100% TILs ≥60%.

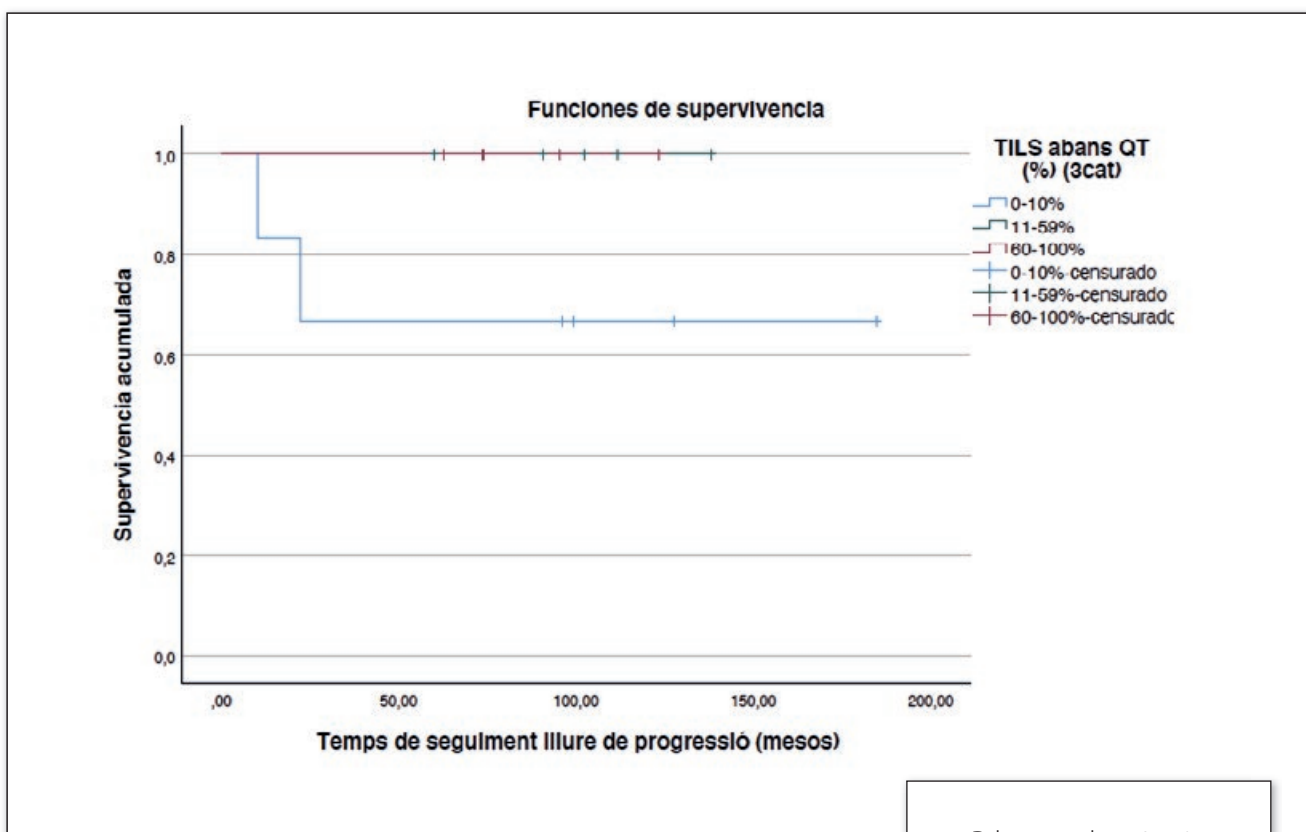


Fig. 38. SLM en funció de TILs pre QTNA en el perfil IHQ HER2: 68% TILs 0-10% vs. 100% TILs 11-59% vs. 100% ≥60%.

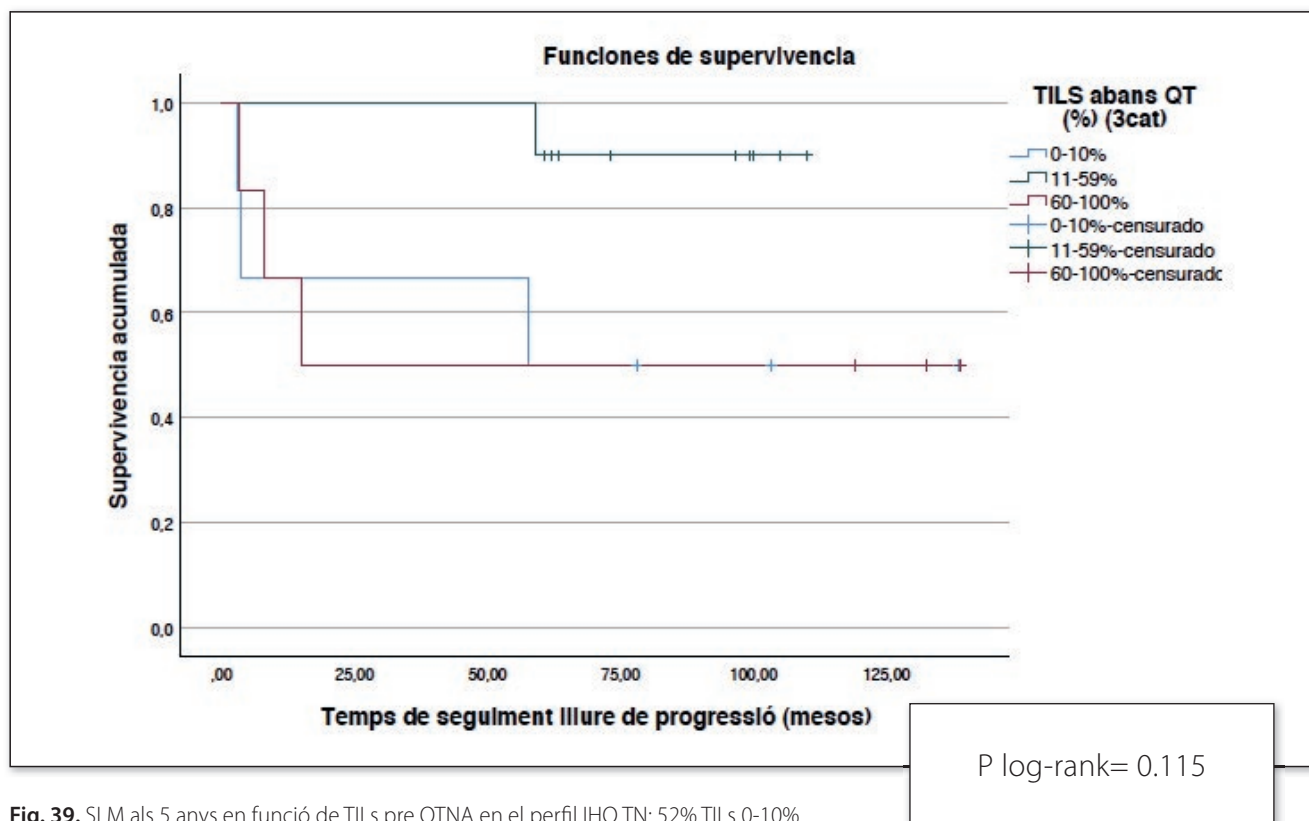


Fig. 39. SLM als 5 anys en funció de TILs pre QTNA en el perfil IHQ TN: 52% TILs 0-10% vs. 92% TILs 11-59% vs. 52% \geq 60%.

TILs post QTNA i SLM: el nivell de TILs post QTNA no mostra diferències estadísticament significatives en SLM; és a dir, en la malaltia residual (Fig. 40). La SLM als 5 anys va ser del: 82% TILs 0-10% vs. 76% TILs 11-59% vs. 83% TILs \geq 60%.

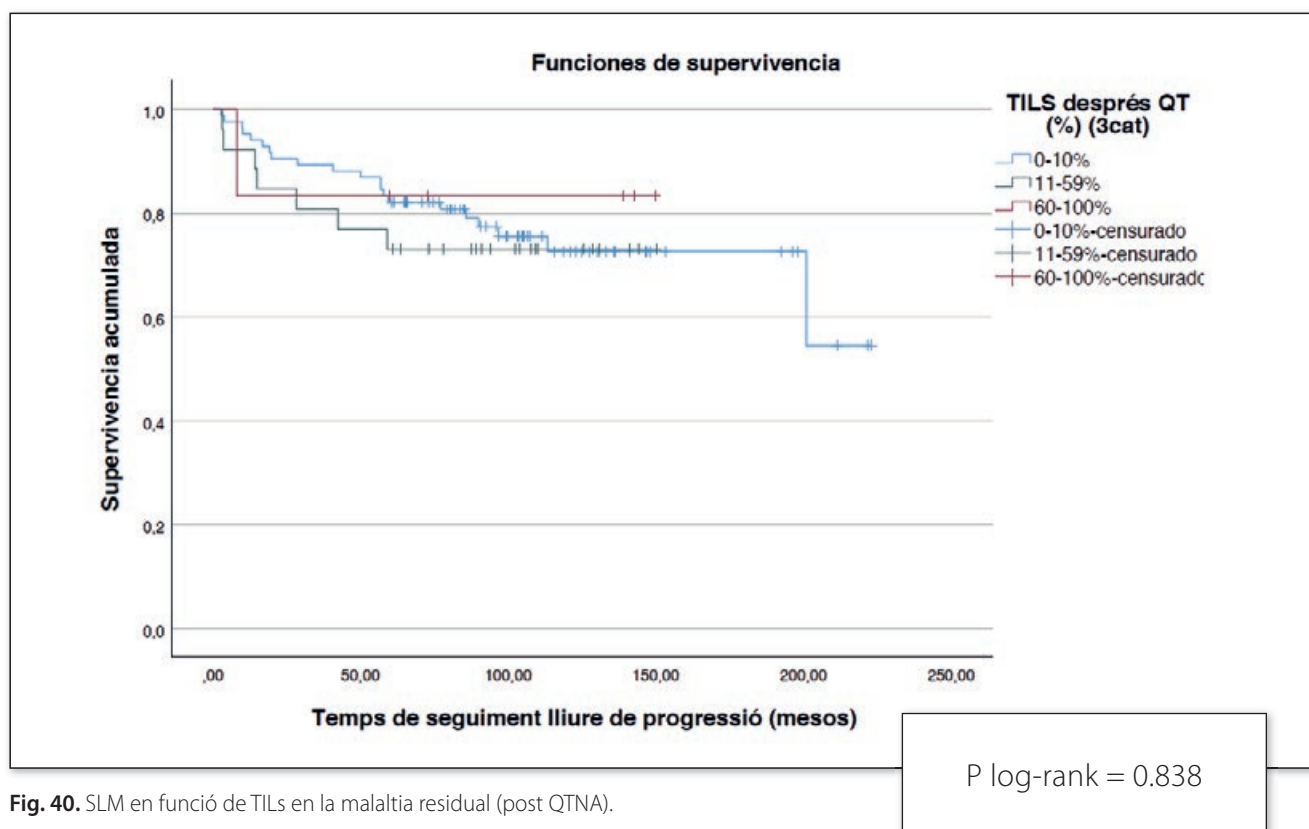


Fig. 40. SLM en funció de TILs en la malaltia residual (post QTNA).

Tampoc es van mostrar diferències estadísticament significatives en la SLM al comparar la pCR vs. no pCR en funció de TILs en malaltia residual (Fig.41). La SLM als 5 anys en funció de la pCR: 95% pCR, 82% no pCR i TILs 0-10%, 76% no pCR i TILs 11-59%, 83% no pCR i TILs $\geq 60\%$.

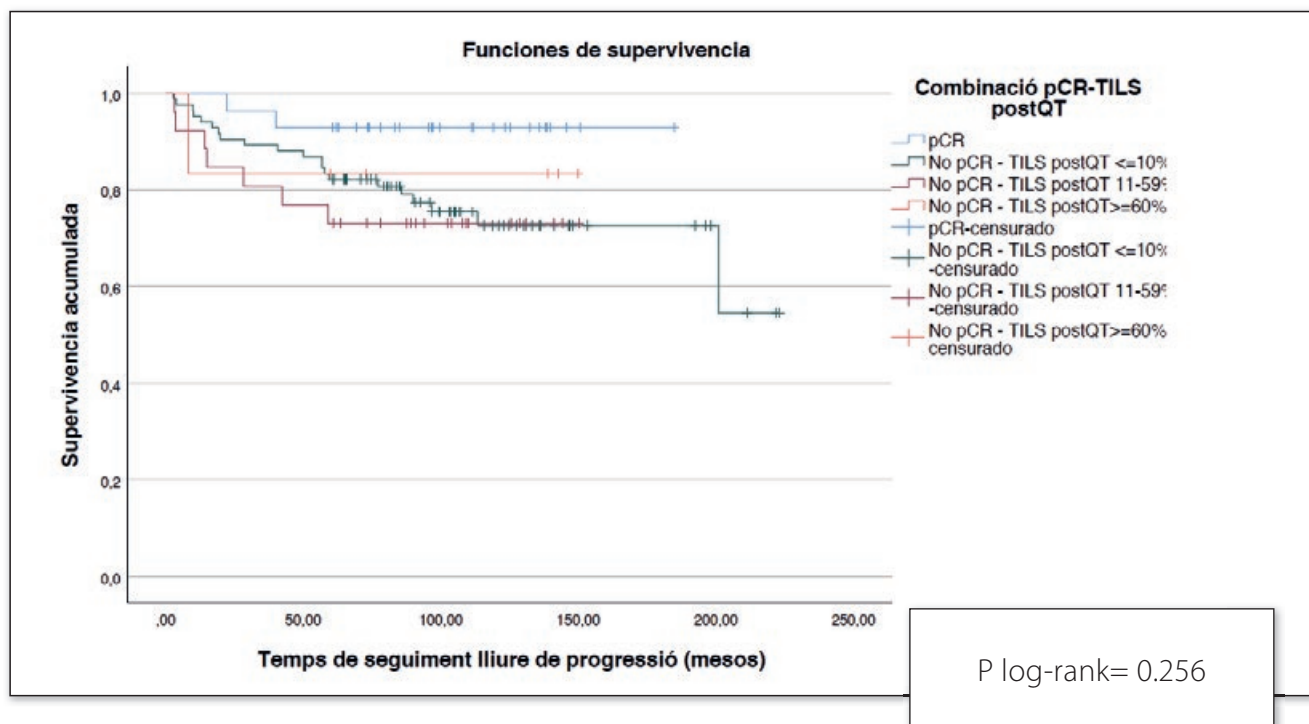


Fig. 41. SLM en funció de TILs en la malaltia residual i pCR.

TILs pre QTNA i SG: El nivell de TILs no presenta diferències en SG estadísticament significatives ni en el global ni per subtipus IHQ (Fig.42-46).

SG als 5 anys en funció de TILs pre QTNA en tots els subgrups excepte luminal A (86% TILs 0-10%, 98% TILs 11-59%, 84% TILs $\geq 60\%$) (Fig. 42).

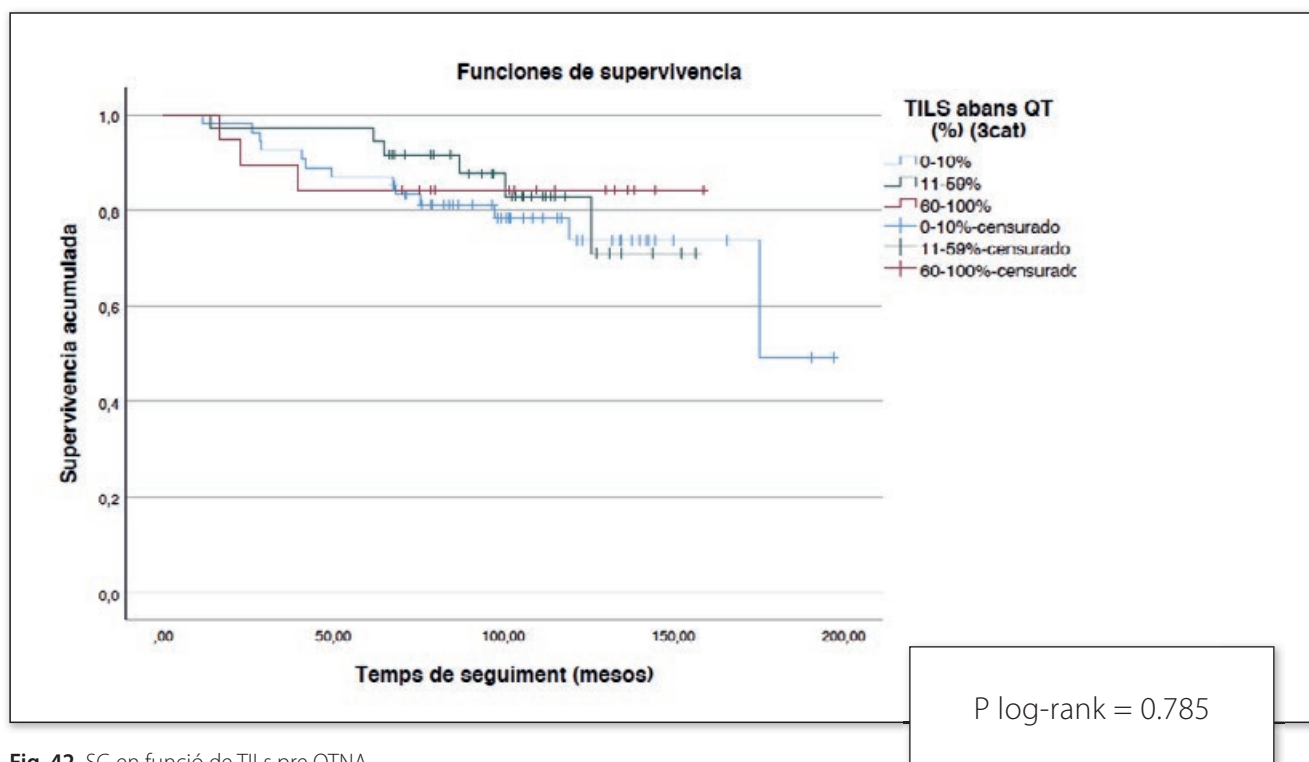


Fig. 42. SG en funció de TILs pre QTNA.

SG als 5 anys en el perfil IHQ luminal B (98% TILs 0-10%, 96% TILs 11-59% i 100% TILs $\geq 60\%$)(Fig. 43).

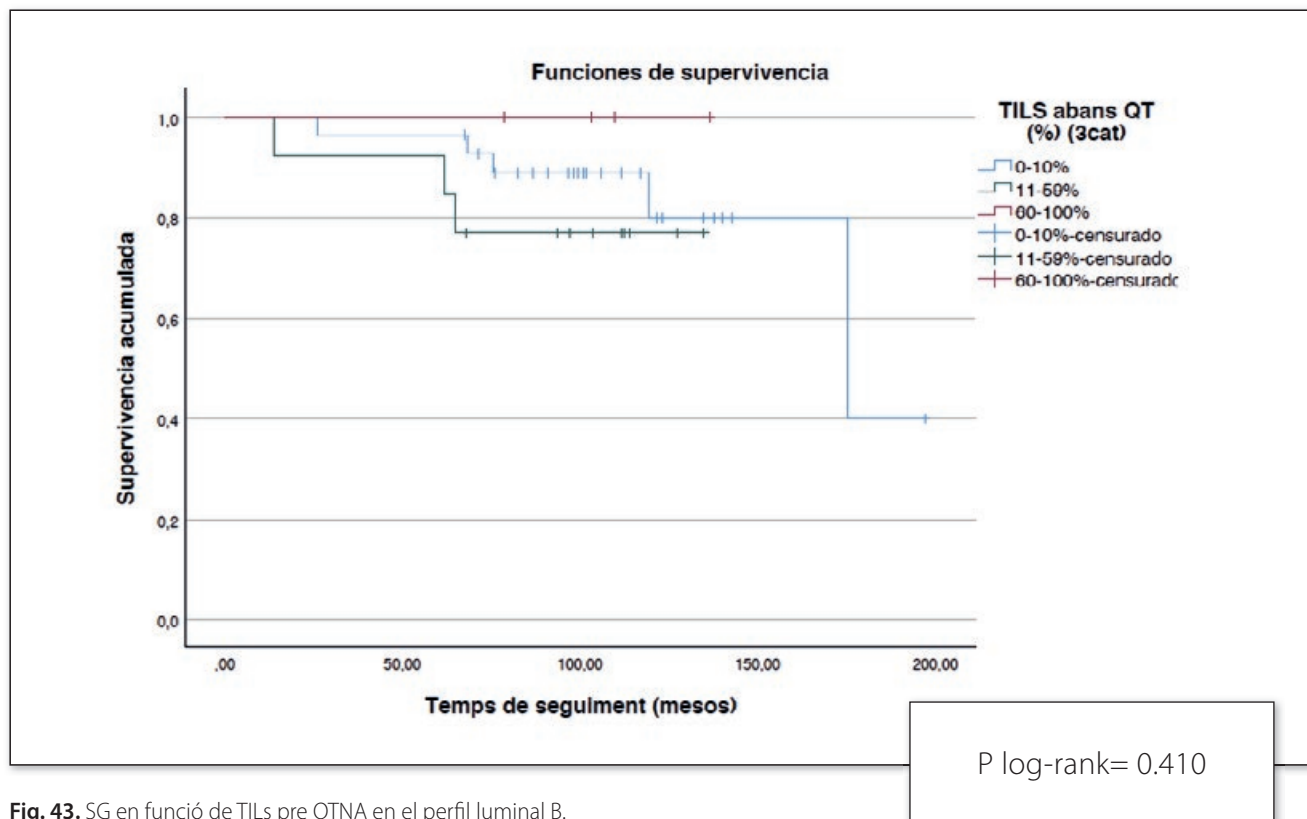


Fig. 43. SG en funció de TILs pre QTNA en el perfil luminal B.

SG als 5 anys en el perfil IHQ luminal B HER2 (86% TILs 0-10% vs. 100% TILs 11-59% vs. 100% TILs $\geq 60\%$) (Fig. 44).

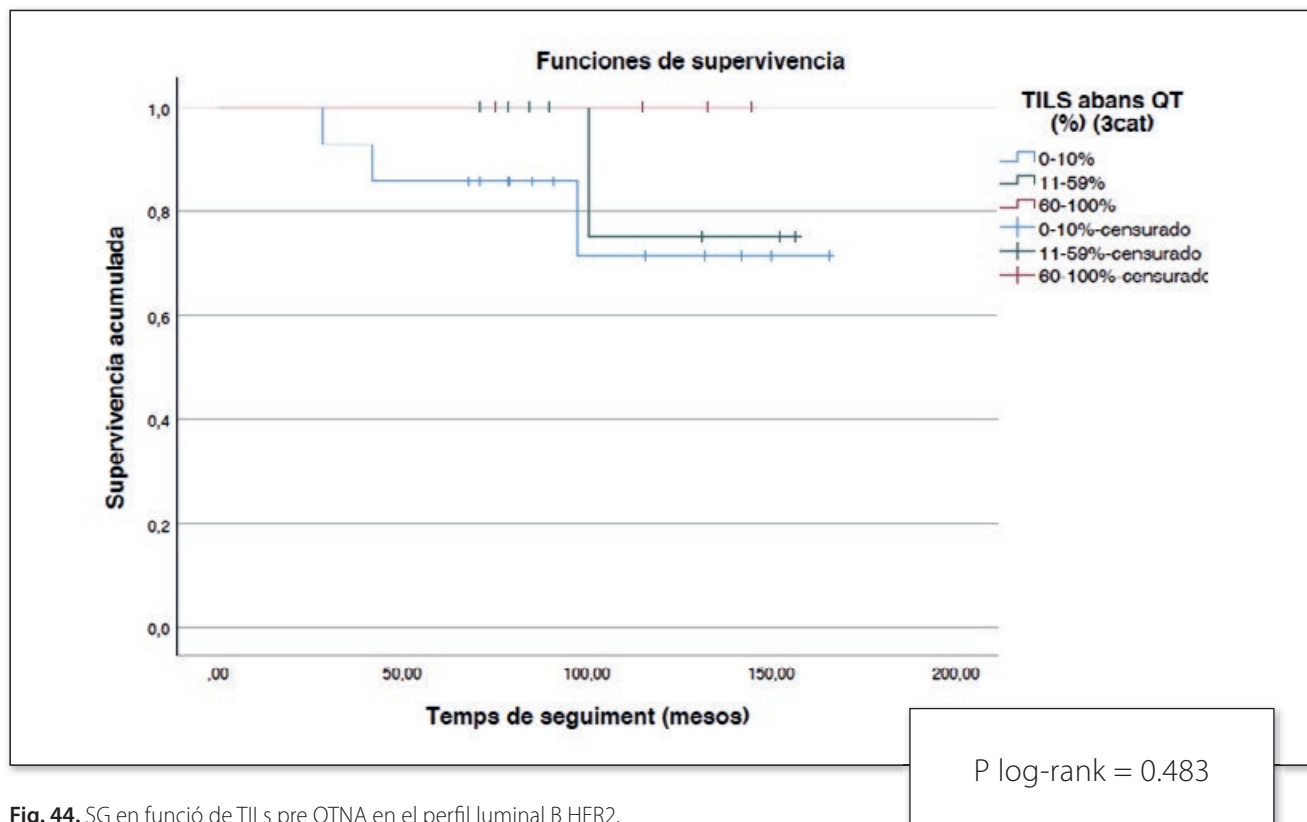


Fig. 44. SG en funció de TILs pre QTNA en el perfil luminal B HER2.

SG als 5 anys en el perfil HER2 pur (66% TILs 0-10% vs. 100% TILs 11-59% vs. 100% TILs $\geq 60\%$)(Fig. 45).

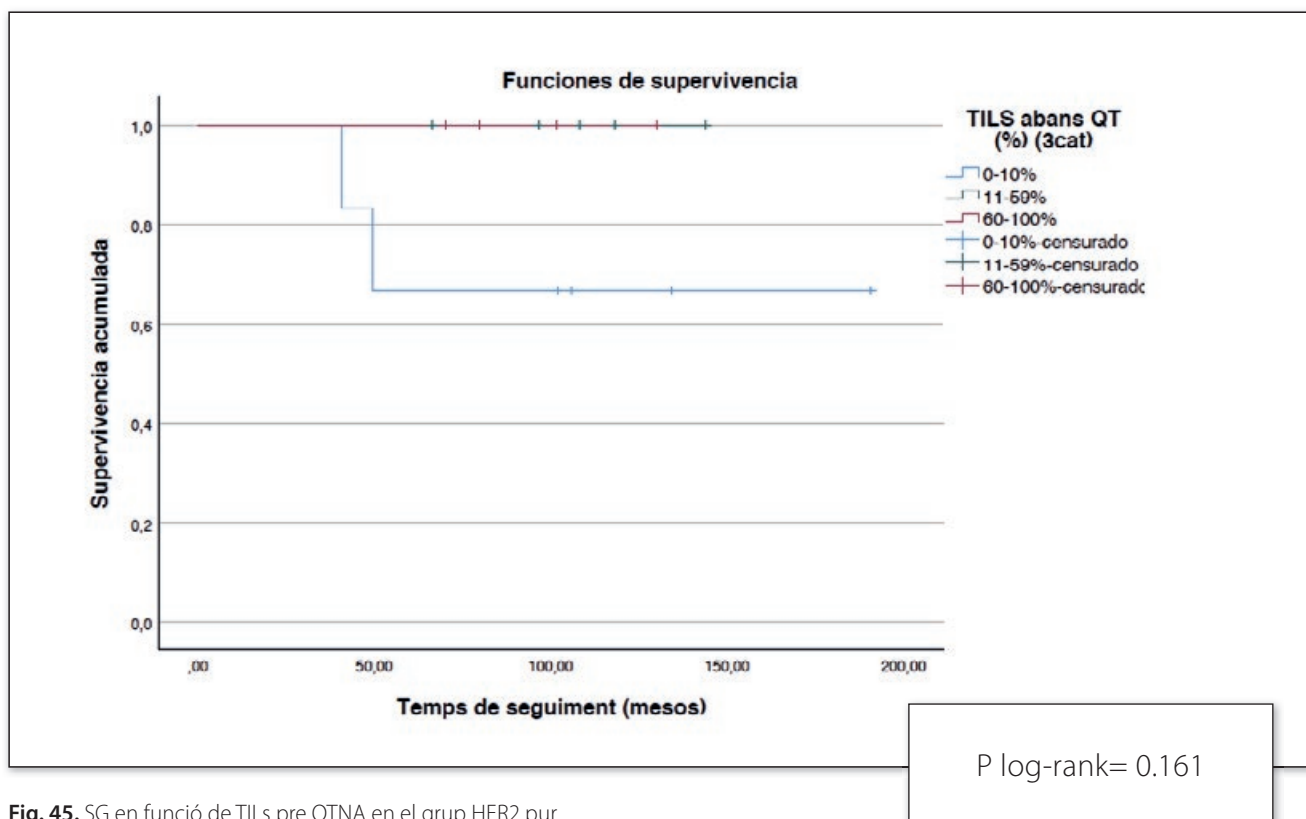


Fig. 45. SG en funció de TILs pre QTNA en el grup HER2 pur.

SG als 5 anys en el subtipus TN (66%TILs 0-10% vs. 100%TILs 11-59% vs. 50% TILs $\geq 60\%$) (Fig. 46).

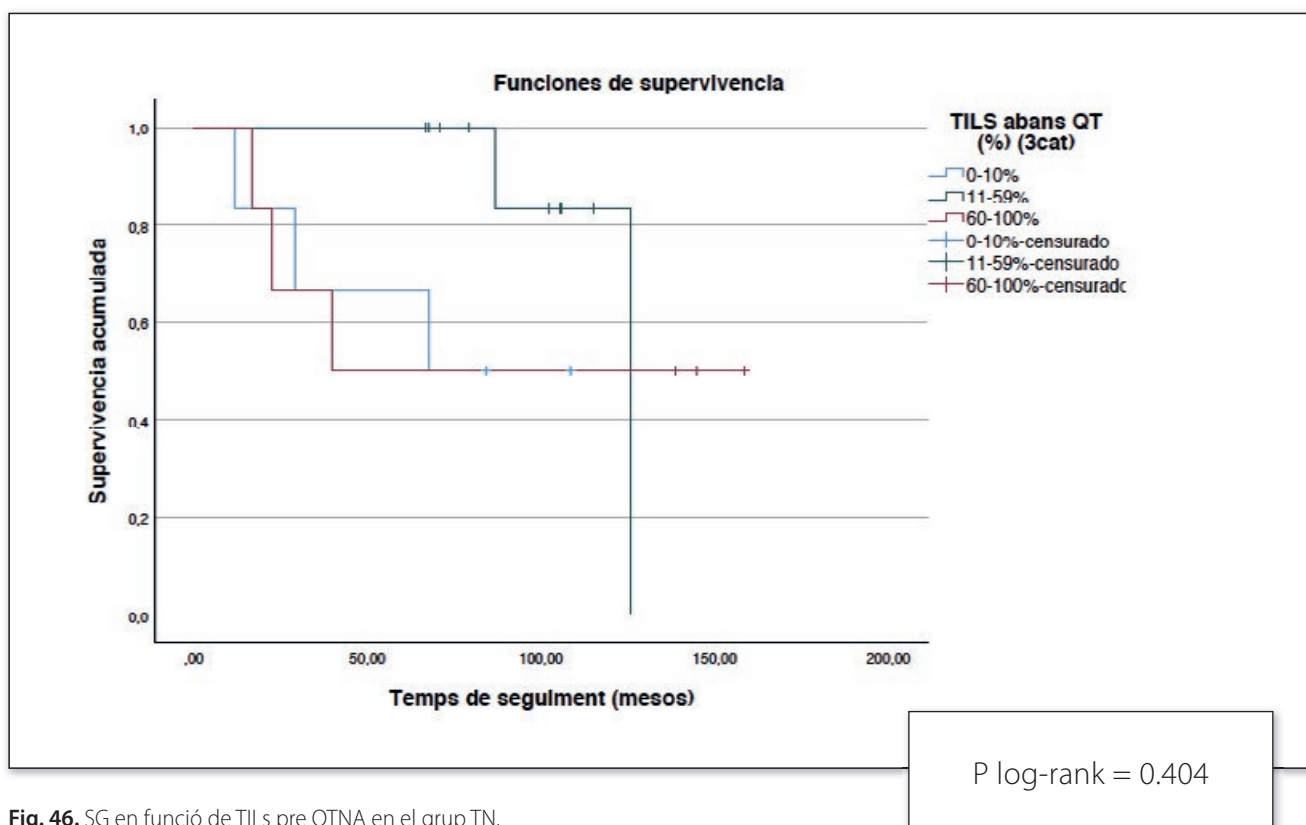


Fig. 46. SG en funció de TILs pre QTNA en el grup TN.

El nivell de TILs post QTNA no mostra diferències estadísticament significatives en SG (Fig. 47). La SG als 5 anys segons el valor d'aquests TILs va ser: 92%TILs 0-10% vs. 89% TILs 11-59% vs. 82%TILs \geq 60%.

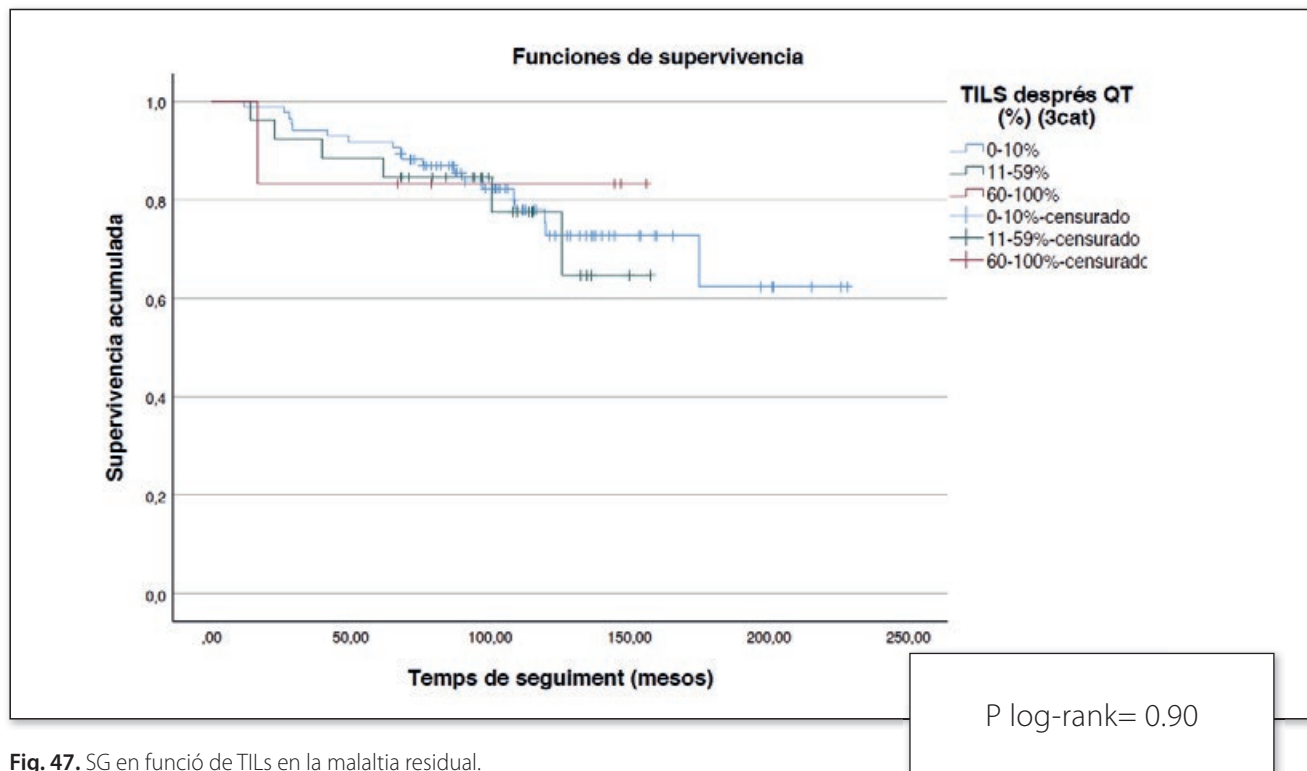


Fig. 47. SG en funció de TILs en la malaltia residual.

Tampoc mostra diferències estadísticament significatives en SG al comparar la pCR amb no pCR en funció del nivell de TILs post QTNA (Fig.48). Aquesta SG va ser: 98% pCR vs. 96% no pCR si TILs < 10% vs. 90% si TILs 11-59% vs. 84% si TILs \geq 60%.

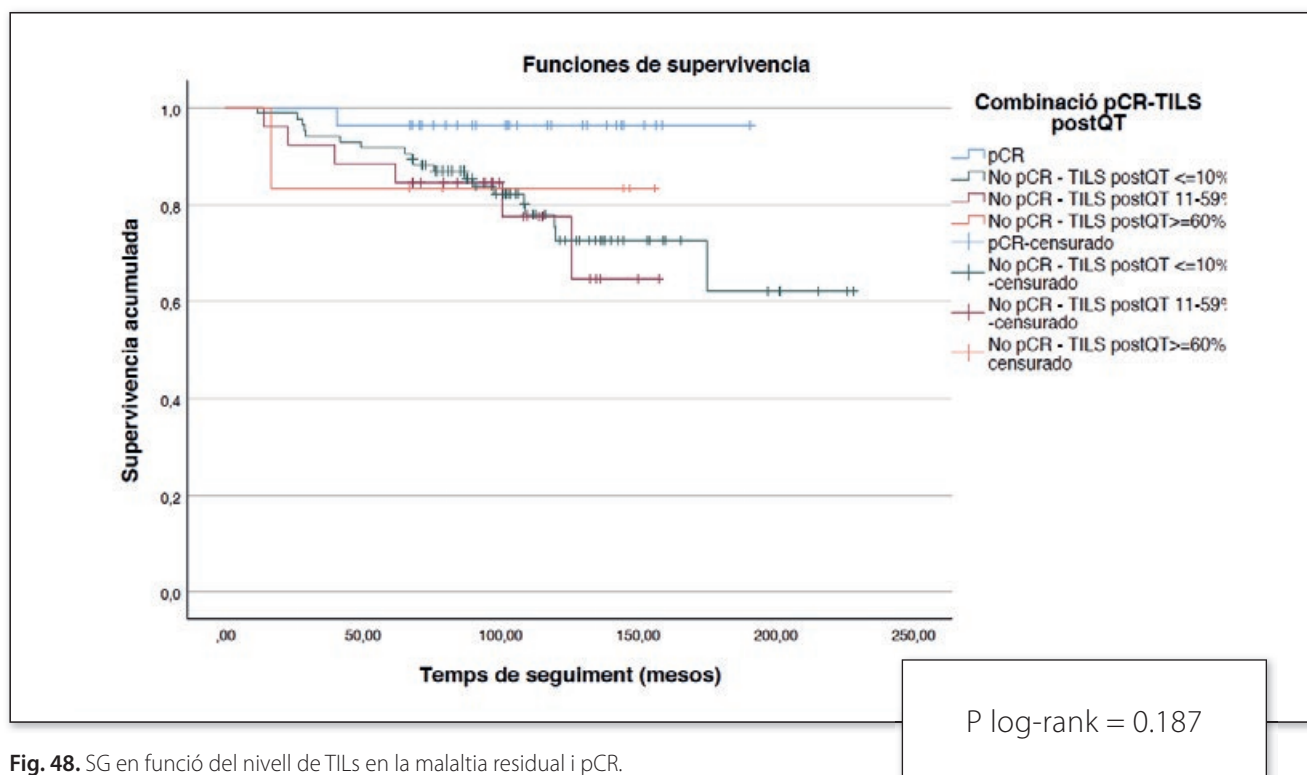


Fig. 48. SG en funció del nivell de TILs en la malaltia residual i pCR.

5.4.3- Anàlisi de supervivència en funció del receptor androgènic

RA i SLM: El RA sí mostra diferències es SLM estadísticament significatives en funció RA <1 vs. ≥1% (Fig. 49) i en funció RA <1% vs. > 10% (Fig.50).

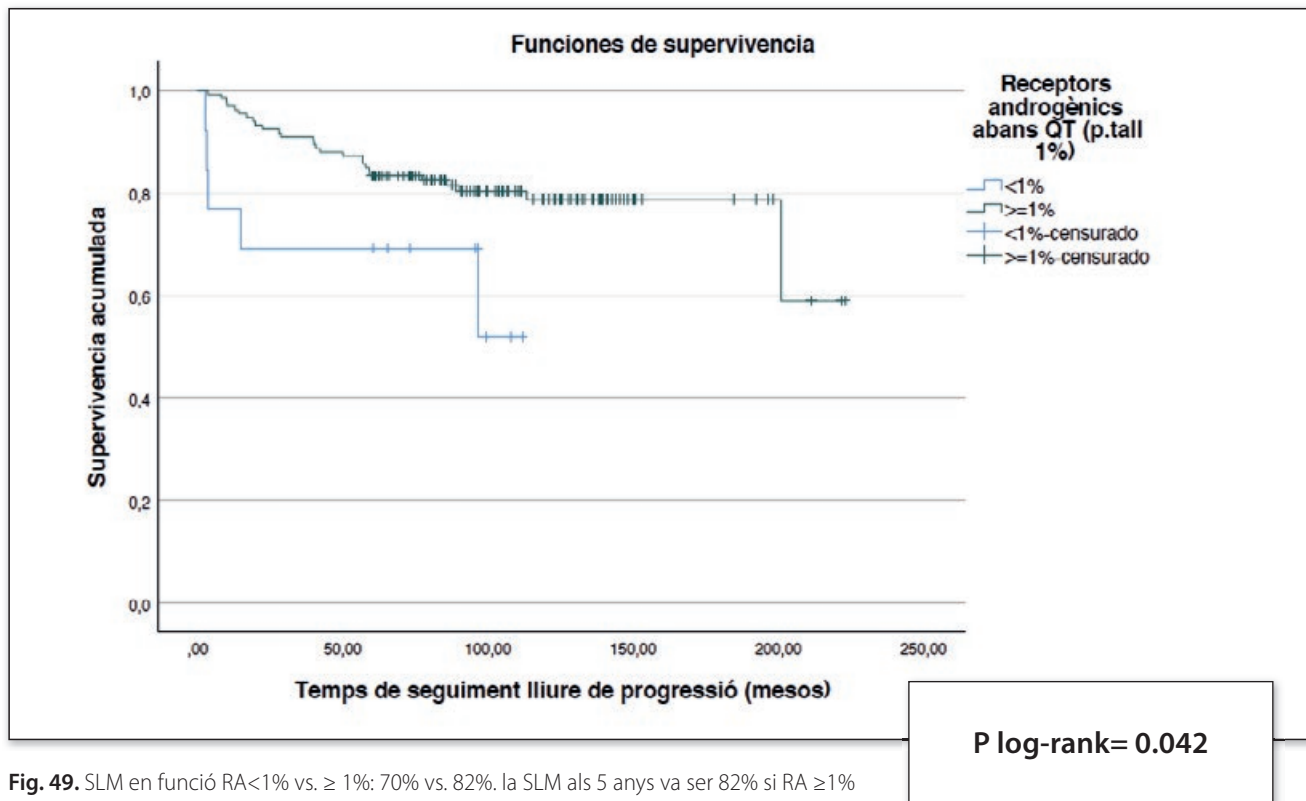


Fig. 49. SLM en funció RA<1% vs. ≥ 1%: 70% vs. 82%. la SLM als 5 anys va ser 82% si RA ≥1% respecte 70% si RA <1% de manera estadísticament significativa (p log-rank=0.042).

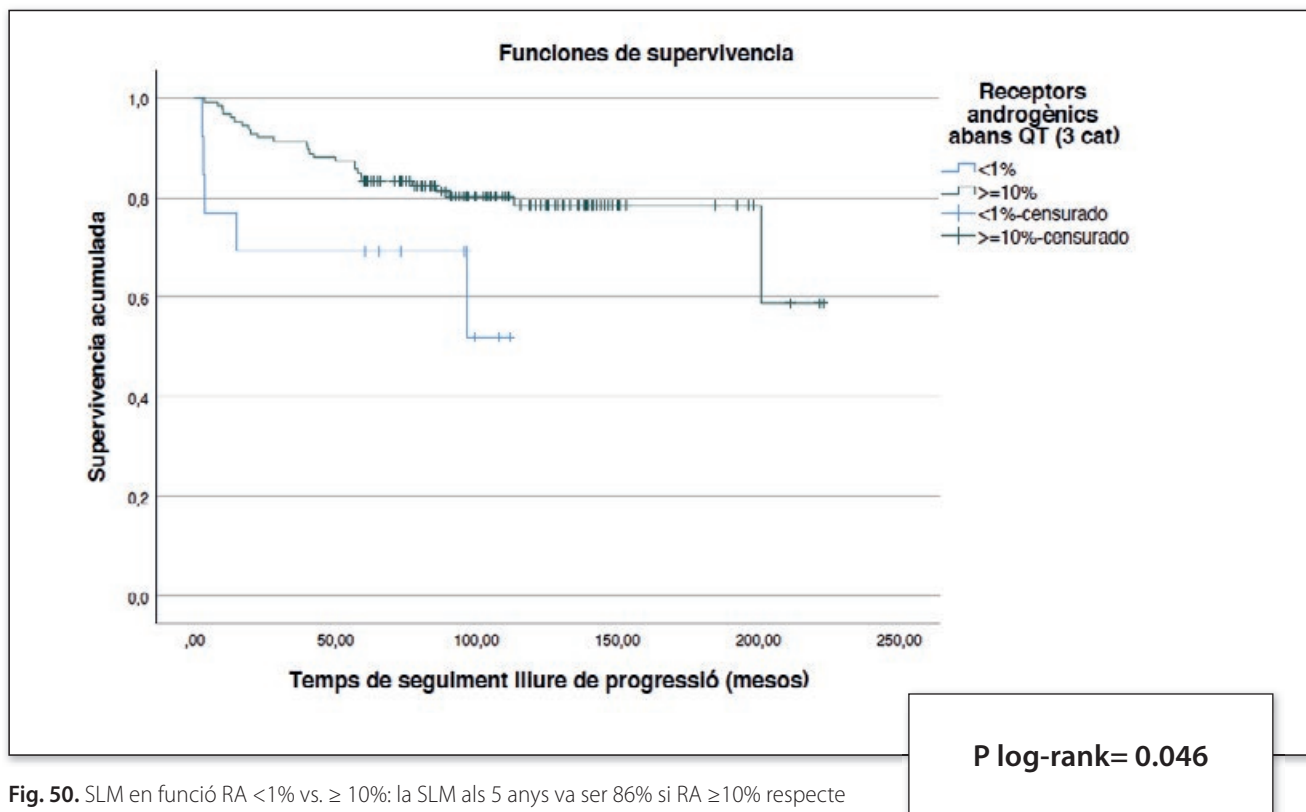


Fig. 50. SLM en funció RA <1% vs. ≥ 10%: la SLM als 5 anys va ser 86% si RA ≥10% respecte 70 % si RA <1% de manera estadísticament significativa (p log-rank 0.046).

A l'estratificar els nivells del RA sigui $<10\%$ vs. $\geq 10\%$ (Fig. 51) o RA $<1\%$ vs. $1-10\%$ vs. $\geq 10\%$ (Fig. 52), la SLM als 5 anys no és significativa.

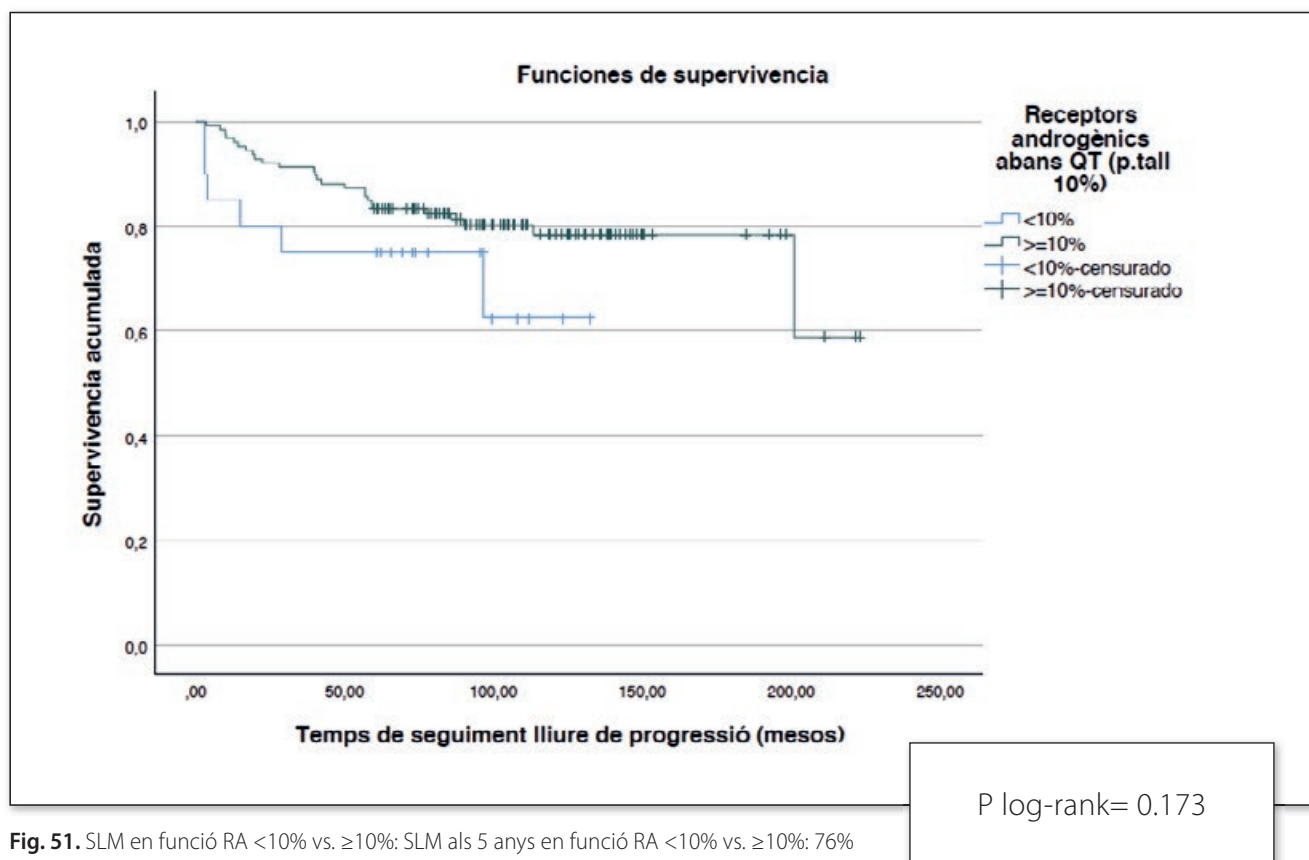


Fig. 51. SLM en funció RA $<10\%$ vs. $\geq 10\%$: SLM als 5 anys en funció RA $<10\%$ vs. $\geq 10\%$: 76% si RA $<10\%$ vs. 85% si RA $\geq 10\%$.

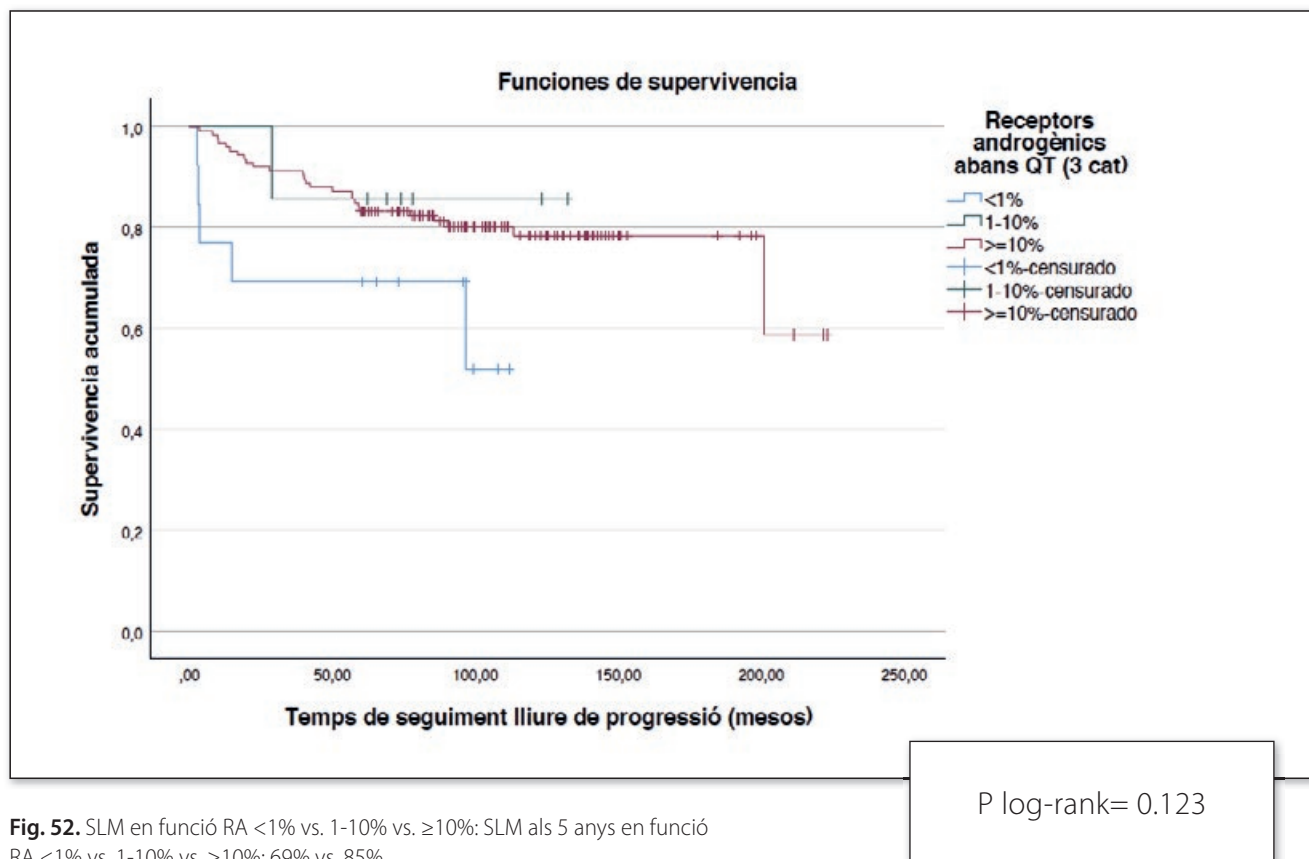


Fig. 52. SLM en funció RA $<1\%$ vs. $1-10\%$ vs. $\geq 10\%$: SLM als 5 anys en funció RA $<1\%$ vs. $1-10\%$ vs. $\geq 10\%$: 69% vs. 85%.

RA i SG: En aquest anàlisi passa el contrari. Quan estratifiquem per RA $<1\%$ vs. $\geq 1\%$ (Fig. 53) no hi ha diferències; mentre si ho analitzem segons $<1\%$ vs. $\geq 10\%$ (Fig. 54), RA $<10\%$ vs. $\geq 10\%$ (Fig. 55) o en 3 categories ($<1\%$ vs. $1-10\%$ vs. $\geq 10\%$) (Fig.56), el resultat és significatiu.

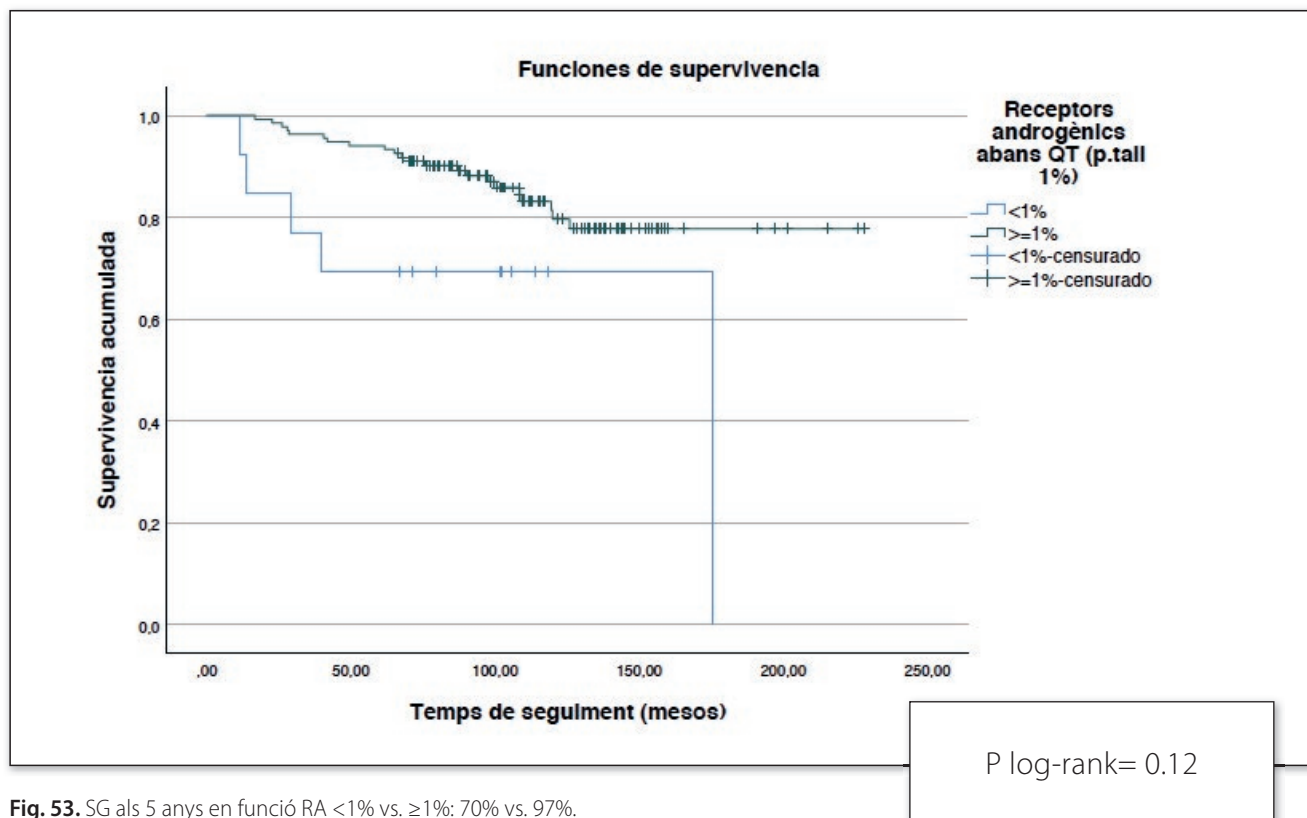


Fig. 53. SG als 5 anys en funció RA $<1\%$ vs. $\geq 1\%$: 70% vs. 97%.

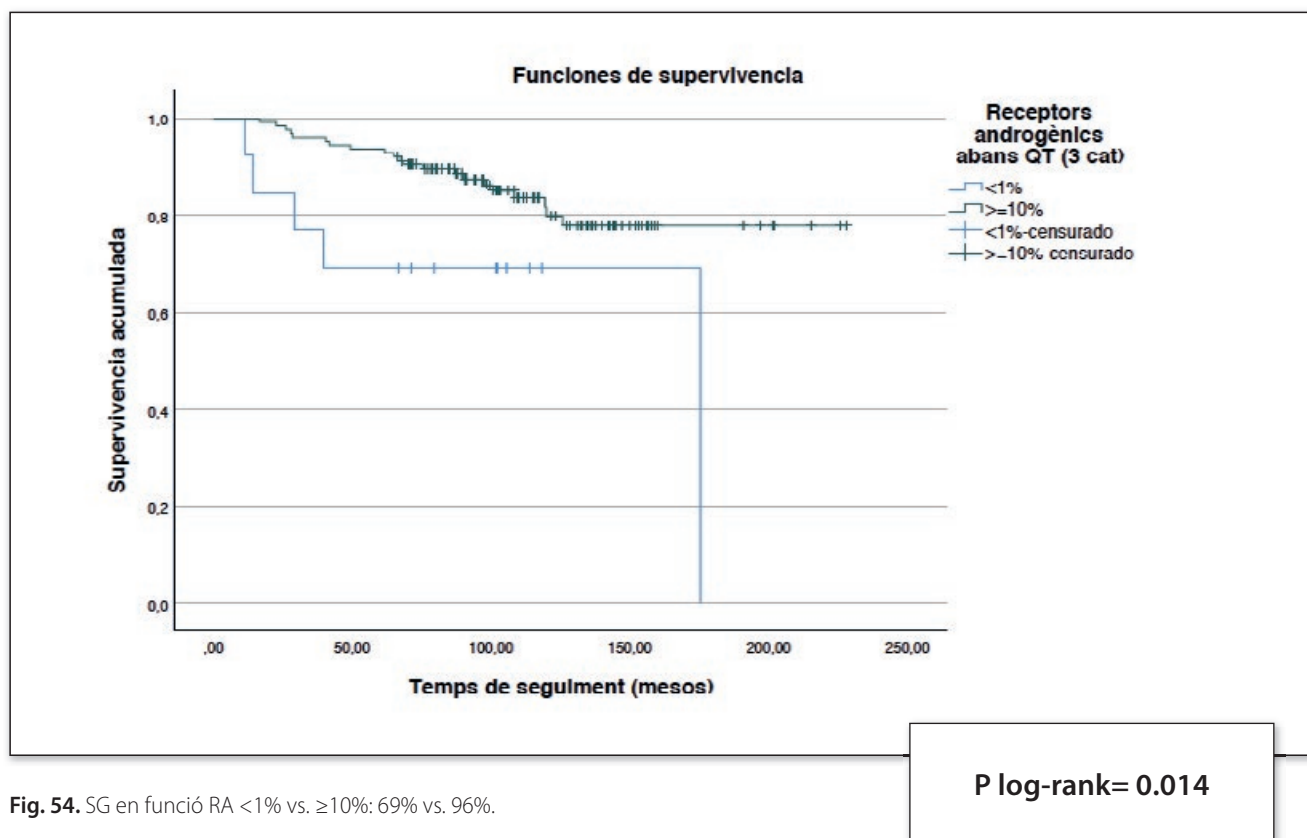


Fig. 54. SG en funció RA $<1\%$ vs. $\geq 10\%$: 69% vs. 96%.

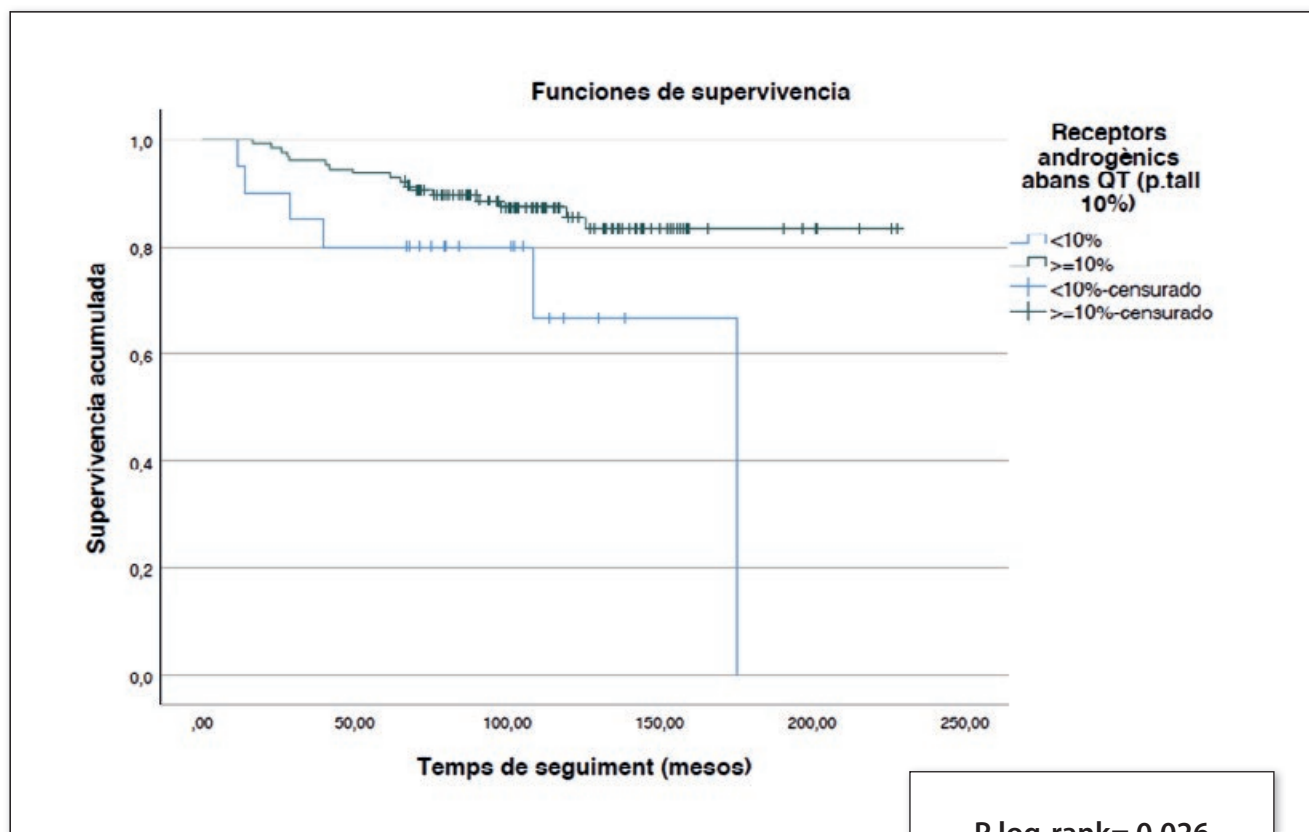


Fig. 55. SG en funció RA < 10% vs. ≥10%: 80% vs. 95%.

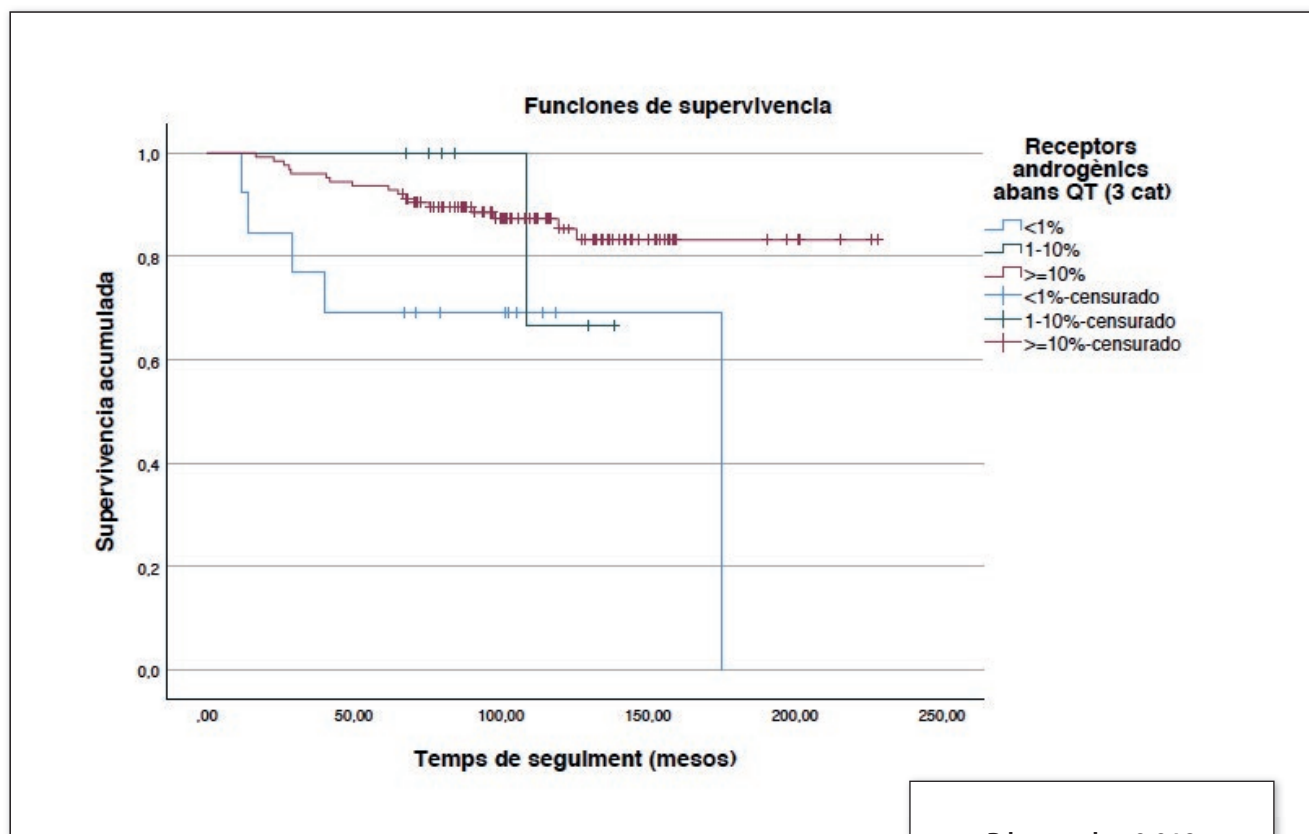


Fig. 56. SG en funció RA <1% vs. RA 1-10% vs. RA ≥10%: 68% vs. 100% vs. 96%.

Quan analitzem les 22 pacients amb CMTN, no s'observen diferències estadísticament significatives en SLM ni en SG en funció dels nivells de RA (Fig. 57-60).

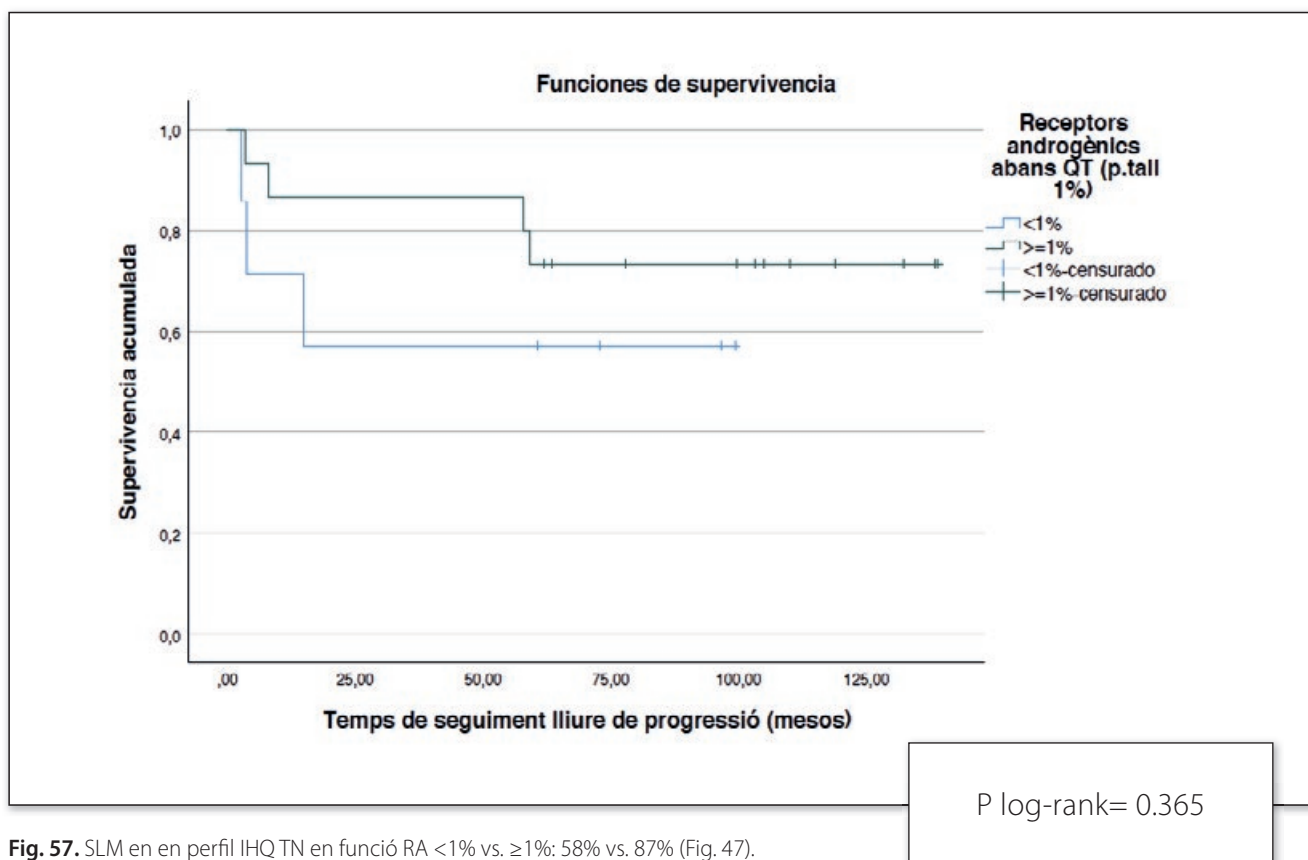


Fig. 57. SLM en en perfil IHQ TN en funció RA <1% vs. ≥1%: 58% vs. 87% (Fig. 47).

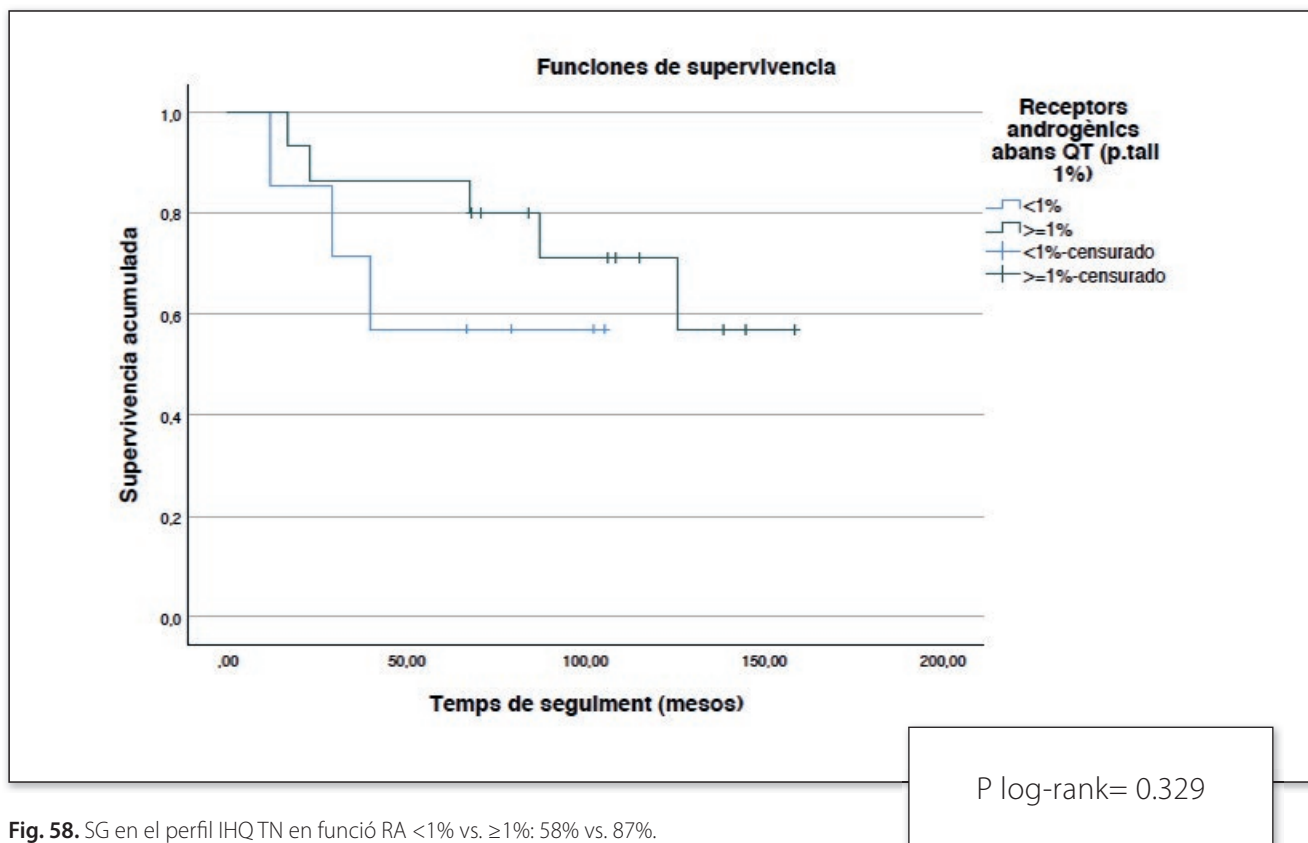
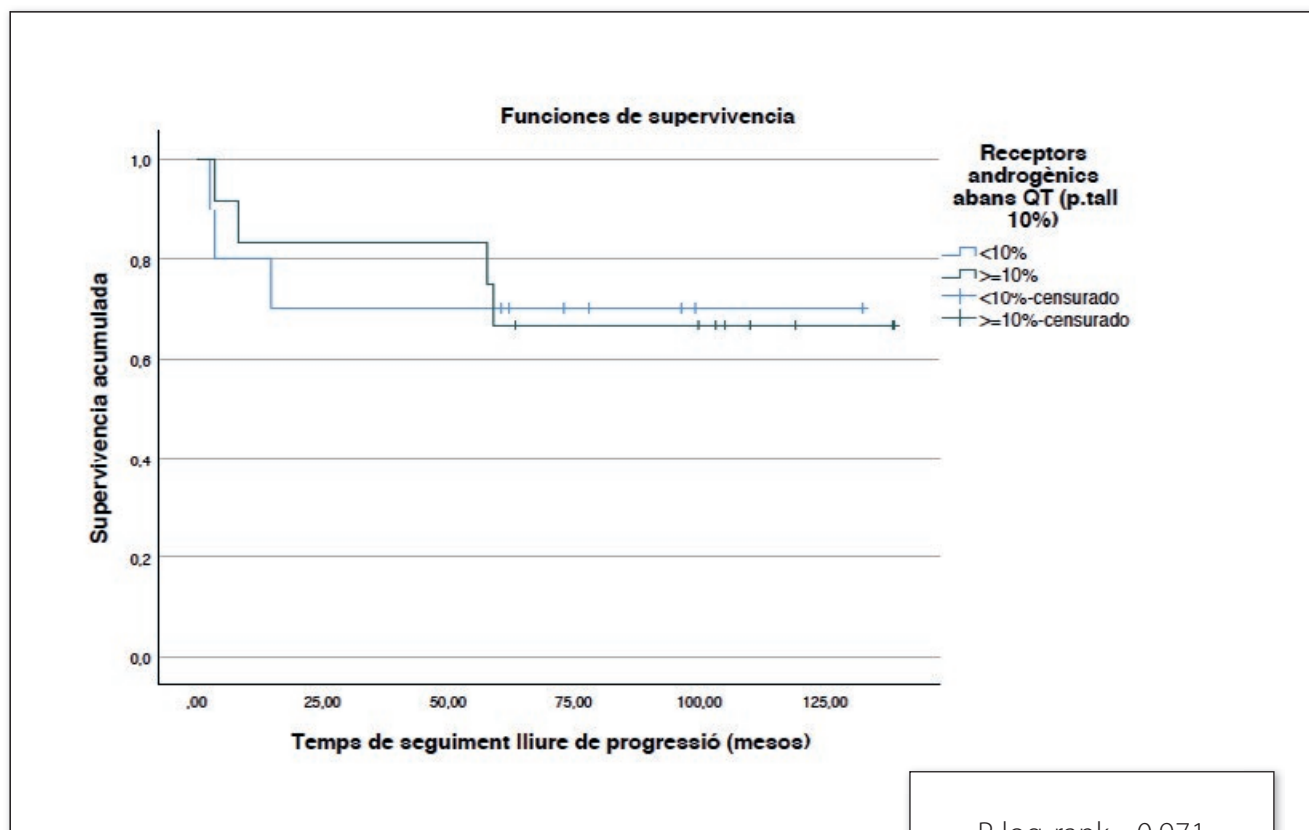
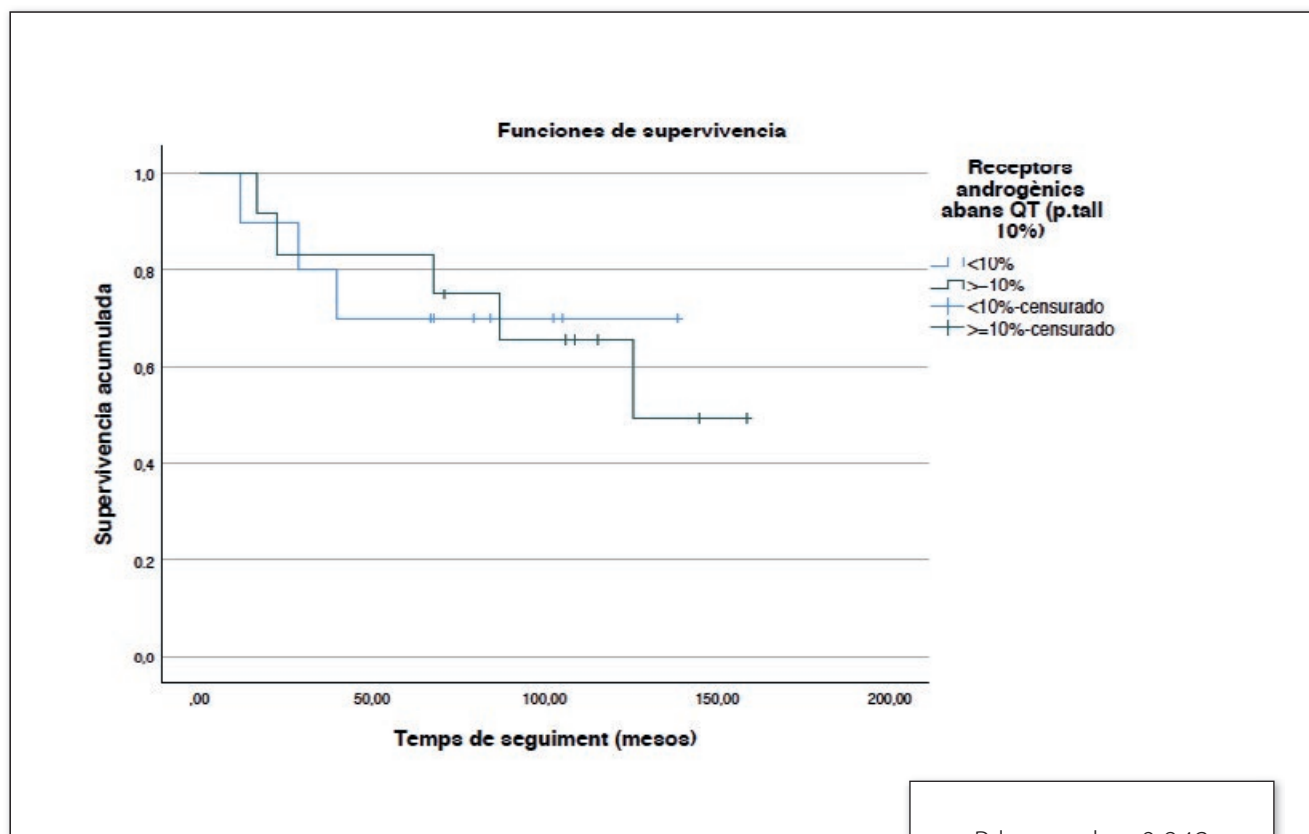


Fig. 58. SG en el perfil IHQ TN en funció RA <1% vs. ≥1%: 58% vs. 87%.



P log-rank= 0.971

Fig. 59. SLM en el subtipus IHQ TN en funció RA <10% vs. ≥10%: 70% vs. 66%.



P log-rank = 0.942

Fig. 60. SG en en subtipus IHQ TN en funció RA <10% vs. ≥10%: 70% v.s 83%.

5.4.4- Anàlisi de supervivència en funció de la ràtio neutròfil/ limfòcit

Els nivells de la RNL no tenen impacte en la SLM ni en la SG ja sigui en el global de la població o per subtipus (Fig. 61-64); de fet, tampoc hem trobat diferències en el CMTN.

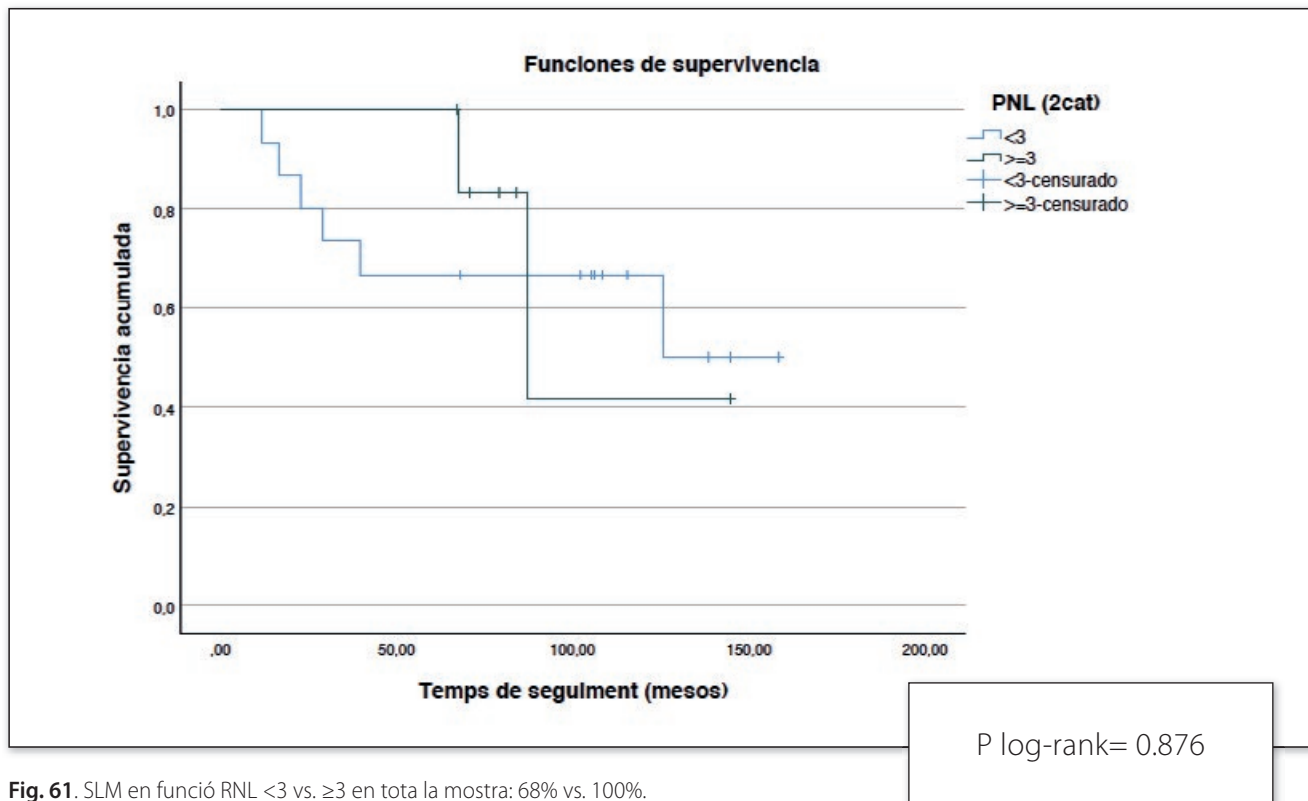


Fig. 61. SLM en funció RNL <3 vs. ≥3 en tota la mostra: 68% vs. 100%.

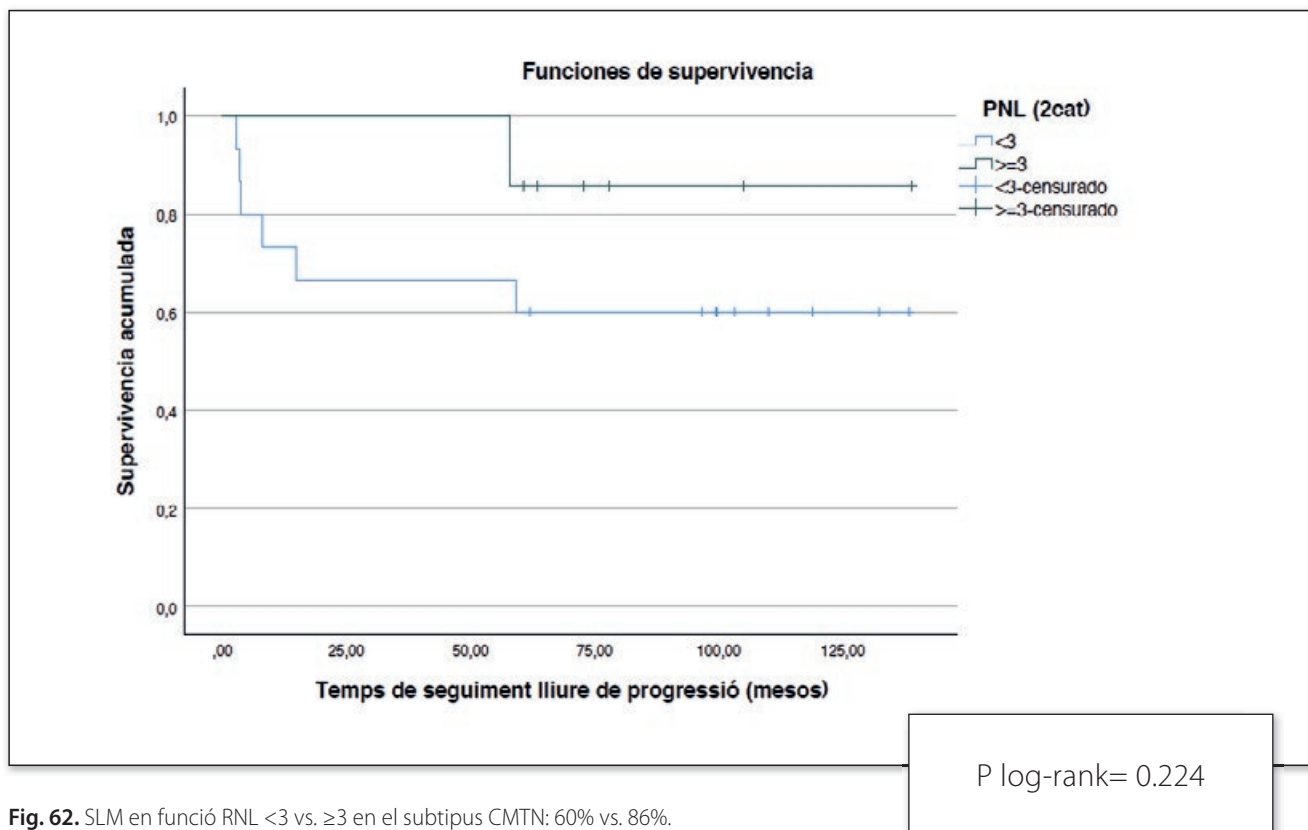


Fig. 62. SLM en funció RNL <3 vs. ≥3 en el subtipus CMTN: 60% vs. 86%.

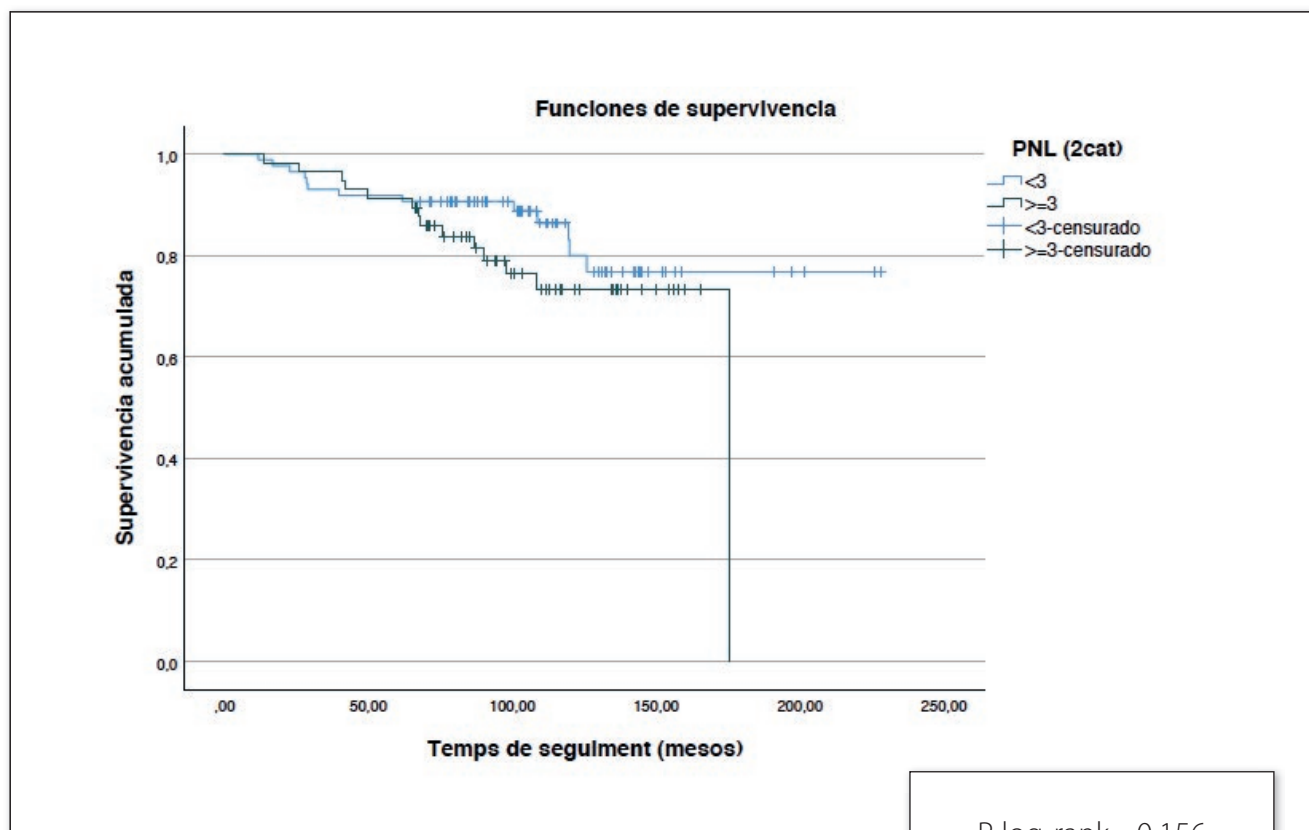


Fig. 63. SG en el total de la mostra en funció RNL <3 vs. ≥3: 91% vs. 90%.

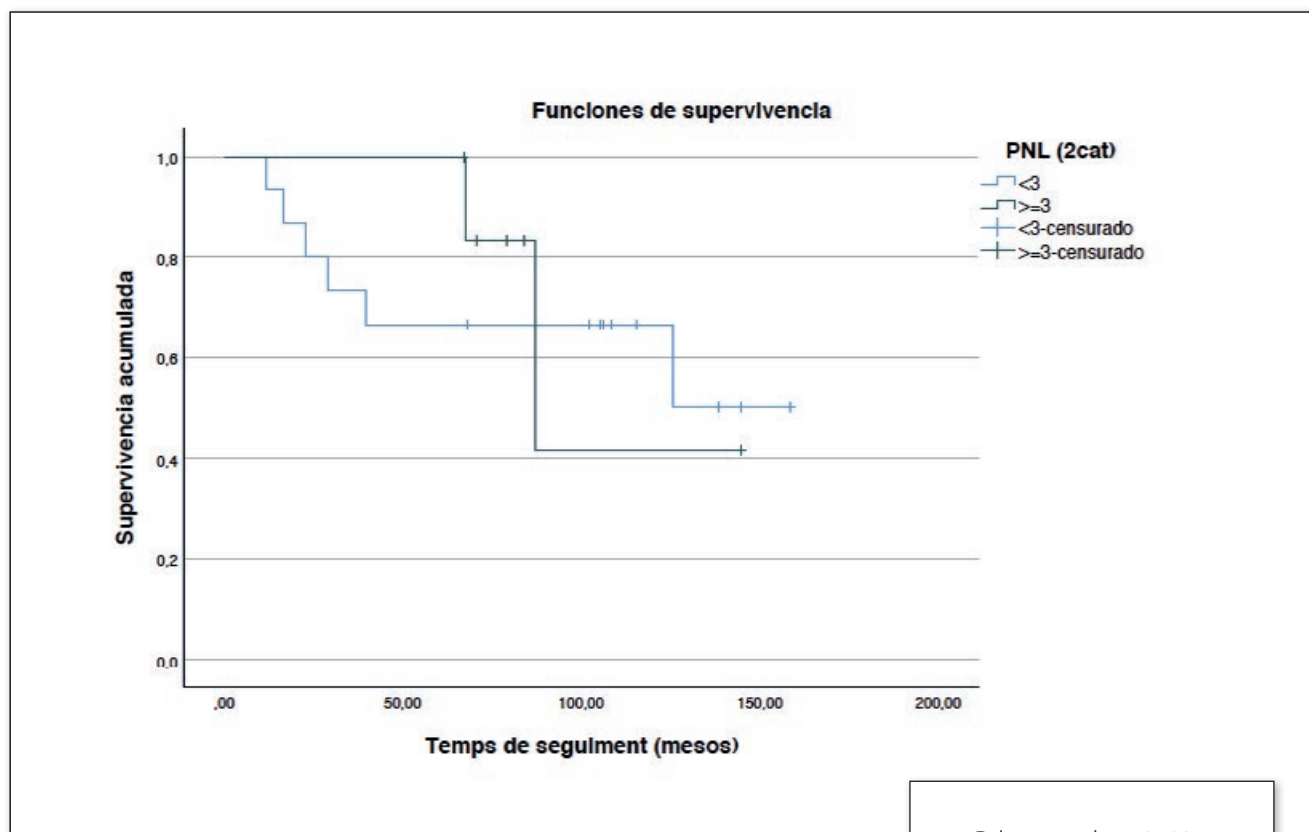


Fig. 64. SG en el subtipus IHQ TN en funció RNL <3 vs. ≥3: 68% vs. 100%.

5.5- Anàlisi bivariada i multivariada

A la Taula 32 es descriuen tots els factors associats a pCR estadísticament significatius.

	pCR	No pCR	P
CA 15.3			
<35	19 (67.9%)	71 (87.7%)	0.022
≥35	9 (32.1%)	10 (12.3%)	
ILV			
Absent	15 (53.6%)	35 (43.2%)	0.005
Present	3 (10.7%)	38 (46.9%)	
Estat menopausa			
Pre o perimenopausa	20 (71.4%)	37 (45.7%)	0.027
Postmenopausa	8 (28.6%)	44 (54.3%)	
RNL			
<3	22 (78.6%)	44 (55.7%)	0.042
≥3	6 (21.4%)	35 (44.3%)	
Perfil IHQ			
Luminal B	2 (7.1%)	43 (53.1%)	<0.005
Luminal B HER2	9 (32.1%)	17 (21%)	
HER2	9 (32.1%)	7 (8.6%)	
Triple negatiu	8 (28.6%)	14 (17.3%)	
RA			
< 10%	9 (32.1%)	10 (12.5%)	0.04
≥ 10%	19 (67.9%)	70 (87.5%)	
TILs			
0-10%	7 (25%)	46 (57.5%)	0.003
11-59%	11 (39.3%)	25 (31.3%)	
60-100%	10 (35.7%)	9 (11.3%)	
RE			
Negatiu	17 (60.7%)	21 (25.9%)	0.001
Positiu	11 (39.3%)	60 (74.1%)	
QTNA taxans			
Paclitaxel	12 (42.9%)	7 (9.9%)	<0.001
Docetaxel	16 (57.1%)	64 (90.1%)	

Taula 32. Factors associats a pCR estadísticament significatius.

5.5.1- Efecte dels TILs pre QTNA sobre la pCR

Es va realitzar una anàlisi bivariada per veure l'efecte cru i una anàlisi multivariada per veure l'efecte ajustat dels TILs sobre la pCR i es va demostrar que el nivell de TILs ≥ 60% presentava una probabilitat d'aconseguir una pCR 10.6 vegades més gran que quan el seu valor era <10% (OR:10.6 (1.38-81.68); p= 0.047) independentment dels altres factors inclosos al model.

A l'anàlisi multivariada (Taula 33) es van incloure les variables estadísticament significatives a l'estudi bivariat: RNL, RA, estat menopausa, ILV, QT segons el tipus de taxà i CA 15.3 pre QTNA.

Variables	Anàlisi bivariada			Anàlisi multivariada		
	OR	95% CI	P	OR	95% CI	P
TILs pre QTNA (3 categories)						
≤ 10%	1	-		1	-	
11-59%	1.5	1.59-12.71	<0.001	5.50	1.04-29.04	0.047
≥ 60%	2.44	3.55-36.80		10.60	1.38-81.68	
RNL						
<3 vs. ≥ 3	2.92	1.10-7.74	0.031	-	-	-
RA						
<10% vs. ≥10%	4.61	1.68-12.61	0.003	-	-	-
Menopausa:						
post vs. pre	2.72	1.11-6.66	0.029	-	-	-
HER2:						
Positiu vs. negatiu	7.13	2.92-17.4	<0.001	13.58	2.37-77.61	0.003
ILV:						
Present vs. absent	4.47	1.22-16.35	0.023	9.03	1.31-62.24	0.026
Taxans						
Docetaxel vs. paclitaxel	7.12	2.64-19.22	<0.001	4.99	0.95-25.27	0.058
CA 15.3 pre QTNA						
Positiu vs. negatiu	3.86	1.45-10.3	0.007	14.89	2.19-101.03	0.006

Taula 33. Efecte cru i ajustat dels TILs sobre la pCR. Variables incloses en el model multivariant stepwise: RNL, RA, estat menopausa, HER2, ILV, QT segons el tipus de taxà i CA 15.3 pre QTNA.

5.5.2- Efecte dels TILs pre QTNA sobre la SLM

A la Taula 34 es mostra l'anàlisi bivariada i multivariada de l'efecte dels TILs en la SLM. A l'anàlisi multivariada es va ajustar l'efecte dels TILs per les variables estadísticament significatives a l'estudi bivariat: el tipus de cirurgia, l'estadiatge patològic, la classificació MiP, la RT, la pCR, la histologia, la ILV i la invasió perineural.

Variables	Anàlisi bivariada			Anàlisi multivariada		
	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P
TILs pre QTNA (3 categories)						
≤ 10%	1	-	0.665	1	-	0.571
11-59%	0.755	0.321-1.777	-	1.202	0.428-3.377	-
≥ 60%	0.634	0.189-2.127	-	2.139	0.522-8.767	-
Classificació MiP: grau de resposta patològica local						
1	1	-	-	1	-	<0.001
2	0.16	0.05-0.46	-	0.049	0.01-0.22	-
3	0.23	0.09-0.56	-	0.159	0.04-0.55	-
4	0.11	0.02-0.51	-	0.060	0.01-0.57	-
5	0.11	0.03-0.43	-	0.077	0.01-0.55	-
RT axil·lar						
Sí vs. no				16,28	2,70-98.30	0.002
Limfadenectomia						
No limfadenectomia	1	-	0.009	1	-	0.034
Micrometàstasi	4.60	1.46-14.56	0.026	8.55	1.56-46.80	-
Macrometàstasi	2.82	1.13-7.04	-	1.15	0.33-3.56	-

Taula 34. Efecte cru i ajustat dels TILs sobre la SLM. Variables incloses en el model multivariant *stepwise*: TILs, classificació MiP: grau de resposta patològica local, RT axil·lar i limfadenectomia.

5.5.3- Efecte dels TILS pre QTNA sobre la SG

A l'anàlisi multivariada es va ajustar l'efecte dels TILs per les variables estadísticament significatives a l'estudi bivariat: el tipus de cirurgia, l'estadiatge patològic, la classificació MiP, la RT, la pCR, el grau histològic, els RA després QTNA >1%, la progressió de la malaltia, la histologia, la ILV i la invasió perineural (Taula 35).

Variables	Anàlisi bivariada			Anàlisi multivariada		
	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P
TILs preQT (3 categories)						
≤10%	1	-	0.926	1	-	0.832
11-59%	1.105	0.453-2.695	0.827	0.942	0.374-2.373	-
≥ 60%	0.844	0.246-2.898	0.788	0.665	0.177-2.495	-
Classificació MiP: grau de resposta patològica local						
1	1	-	<0.001	1	-	-
2	0.10	0.02-0.39	-	0.049	0.01-0.25	< 0.001
3	0.26	0.10-0.69	-	0.208	0.076-0.57	-
4	0.07	0.00-0.60	-	0.081	0.01-0.674	-
5	0.05	0.00-0.41	-	0	0	-
RA després QTNA						
<1% vs. ≥1%	0.22	0.09-0.58	0.002	0.141	0.05-0.40	< 0.001

Taula 35. Efecte cru i ajustat dels TILs sobre la SG. Variables incloses en el model multivariant *stepwise*: TILs, classificació MiP: grau de resposta patològica local i RA.

5.5.4- Efecte del RA determinat abans de la QTNA sobre la SLM

Tot i que no hi havia factors que associessin els RA i la SLM o els RA i la SG (factors de confusió), es va realitzar una anàlisi multivariada per veure l'efecte ajustat dels RA sobre la progressió o mortalitat (Taula 36). Les variables incloses al model van ser: l'estadiatge, la ILV i la invasió perineural.

Els RA <10% presentaven un efecte positiu sobre la SLM (HR: 0.22 (0.07-0.67); p=0.007).

Variables	Anàlisi bivariada			Anàlisi multivariada		
	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P
RA						
<10 vs. ≥10%	-	-	-	0.228	0.077-0.671	0.007
Estadiatge						
III vs. II	-	-	-	2.855	1.274-6.398	0.011
ILV						
Present vs. absent	-	-	-	2.828	1.224-6.533	0.015
Invasió perineural						
Present vs. absent	-	-	-	2.518	0.939-6.752	0.067

Taula 36. Efecte dels RA sobre la SLM ajustat per: l'estadiatge, la ILV i la invasió perineural.

5.5.5- Efecte del RA determinat abans de la QTNA sobre la SG

Les variables incloses al model en aquest cas van ser: l'estadiatge, tipus histològic i grau histològic (Taula 37). No es va veure cap efecte dels RA sobre la mortalitat (HR:0.48 (0.186-1.248); p=0.133).

Variables	Anàlisi bivariada			Anàlisi multivariada		
	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P
RA						
<10 vs. ≥10%	-	-	-	0.482	0.186-1.248	0.133
Estadiatge						
III vs. II	-	-	-	2.565	1.150-5.718	0.021
Tipus histològic						
Ductal vs. lobel·lar	-	-	-	1.931	0.543-6.863	0.309
Grau histològic						
I				1	-	0.101
II	-	-	-	2.726	0.504-14.74	-
III				5.628	0.934-33.90	-

Taula 37. Efecte dels RA sobre la SG ajustat per: l'estadiatge, tipus histològic i grau histològic.

5.5.6- Efecte de la RNL sobre la SLM

Tot i que no hi ha factors que associessin la RNL i la SLM o la RNL i la SG (factors de confusió), es va realitzar una anàlisi multivariada per veure l'efecte ajustat dels RA sobre la progressió o mortalitat (Taula 38). Les variables incloses al model multivariant van ser: l'estadiatge, la ILV i la invasió perineural.

No es va observar cap efecte de la RNL sobre la SLM (HR: 0.876(0.392-1.957); p=0.747).

Variables	Anàlisi bivariada			Anàlisi multivariada		
	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P
RNL						
<3 vs. ≥3	-	-	-	0.876	0.392-1.957	0.747
Estadiatge						
II vs. III	-	-	-	2.127	0.975-4.638	0.058
ILV						
Present vs. absent	-	-	-	2.285	0.998-5.231	0.051
Invasió perineural						
Present vs. absent	-	-	-	2.290	0.896-6.030	0.094

Taula 38. Efecte de la RNL sobre la SLM ajustat per: estadiatge, ILV i invasió perineural.

5.5.7- Efecte de la RNL sobre la SG

Les variables incloses al model multivariant van ser: l'estadiatge, tipus histològic i el grau histològic (Taula 39). Tampoc es va observar cap efecte de la RNL sobre la mortalitat (HR: 1.766 (0.822-3.792); $p=0.145$).

Variables	Anàlisi bivariada			Anàlisi multivariada		
	HR	IC 95%	P	HR	IC 95%	P
RNL						
<3 vs. ≥3	-	-	-	1.766	0.822-3.792	0.145
Estadiatge						
III vs. II	-	-	-	2.285	1.019-5.122	0.045
Tipus histològic						
Ductal vs. lobel·lar	-	-	-	1.960	0.568-6.761	0.287
Grau histològic						
I	-	-	-	1	-	0.087
II	-	-	-	2.414	0.460-12.67	-
III	-	-	-	5.370	0.919-31.37	-

Taula 39. Efecte de la RNL sobre la SG ajustat per: estadiatge, tipus histològic i grau histològic.

5.6- Model de puntuació de probabilitat o score per pCR

A partir de les característiques del tumor associades a pCR (TILs, RA, RE, Ki-67, HER2, RNL i CA 15.3), es va realitzar un model per predicció de resposta o score. No es va incloure la ILV pels *missings*.

Pel càlcul del score es va donar a cada factor associat a pCR una puntuació segons les OR crues:

- Si OR 1-2: 1 punt.
- Si OR 2.1-3.0: 2 punts.
- Si OR 3.1-4.0: 3 punts.
- Si OR 4.1-6.0: 4 punts.
- Si OR > 6: 5 punts.

Es va obtenir una corva ROC amb una àrea sota la corva del 88% (Fig. 65).

AUC=0.882

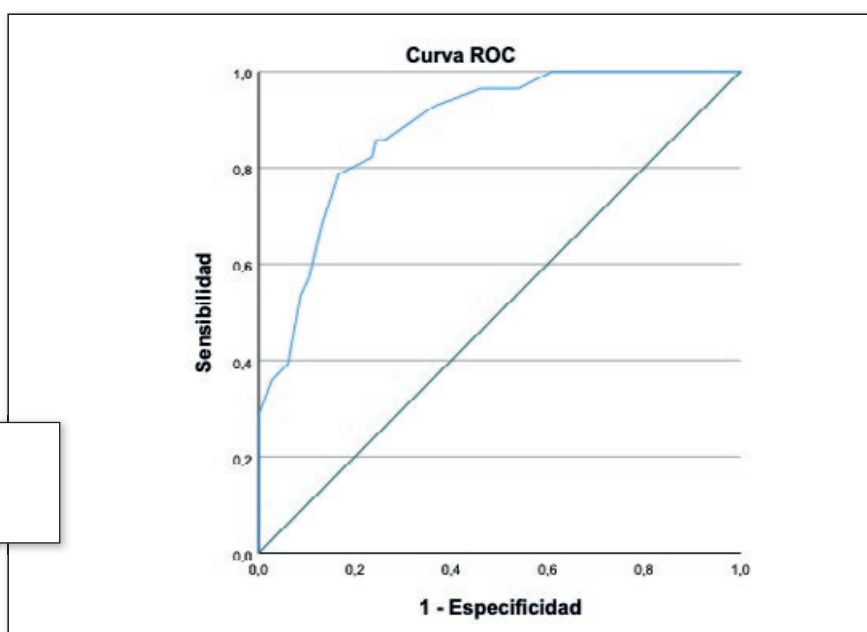


Fig. 65. Corva ROC del score o model de puntuació predictiu per pCR.

Aquest *score* es va categoritzar en 4 grups en funció de la probabilitat de resposta: probabilitat nul·la de pCR (puntuació ≤ 4), probabilitat baixa (puntuació de 5-14), probabilitat moderada (15-19) i probabilitat alta (≥ 20).

La probabilitat d'aconseguir pCR amb una puntuació ≤ 4 era nul·la, entre 5-14 del 14.1%, entre 15 i 19 del 42.3% i ≥ 20 , del 100% ($p < 0.001$) (Taula 40).

Categories	pCR		P
	No	Sí	
Probabilitat nul·la de pCR (≤ 4)	100% (45)	0% (0)	<0.001
Probabilitat baixa de pCR (5-14)	85.9% (55)	14.1% (9)	
Probabilitat moderada de pCR (15-19)	57.7% (15)	42.3% (11)	
Probabilitat alta de pCR (≥ 20)	0% (0)	100% (8)	

Taula 40. *Score* o model de puntuació predictiu per pCR.

DISCUSSIÓ

6- DISCUSSIÓ

6.1- TILs

6.1.1- Paper predictiu i pronòstic dels TILs

En el nostre estudi, l'objectiu principal és analitzar el valor predictiu i pronòstic dels TILs en les pacients amb CMLA previ a la QTNA i en la malaltia residual.

Publicacions prèvies han demostrat l'associació de nivells alts de TILs amb l'augment de pCR després d'un tractament neoadjuvant i una millor supervivència en l'escenari adjuvant, sobretot en els subtipus TN i HER2 (216)(217)(228)(233)(234)(235)(236).

Cada vegada hi ha més pacients diagnosticades de CM que inicien el tractament amb QTNA i això fa que sigui molt important identificar biomarcadors per predir la probabilitat de pCR i per tant, l'augment de supervivència (139). En aquest sentit, el nivell de TILs és un bon candidat.

La distribució dels TILs varia en funció del subtipus IHQ i el seu paper predictiu i pronòstic està més establert, com hem dit anteriorment, en el CMTN que en els altres subtipus (287)(288) ja que presenta majors nivells (215)(216). El subtipus HER2 també s'ha demostrat que té major infiltració de TILs i major pCR amb QTNA i bloqueig antiHER2 (217)(228). Finalment, el subtipus luminal s'ha considerat el menys immunogènic i per això s'ha qüestionant el paper de la pCR i el seu impacte en la supervivència d'aquests tumors; no obstant, dades recents suggereixen una possible associació de la biologia tumoral amb la immunitat i inflamació en aquest perfil (288)(289). Encara que la majoria d'estudis previs han considerat el CM luminal A i B com un únic subtipus, s'ha demostrat que no són iguals i tenen *drivers* o mutacions conductores oncogèniques diferents (290)(291). A més, el subtipus luminal B es pot classificar en funció de l'estat de HER2 i com que la seva sobreexpressió per ella mateixa ja és immunogènica, es poden diferenciar els 2 subtipus luminals B.

El paper dels TILs després de QTNA ha estat controvertit pel que fa al significat pronòstic de la malaltia residual (292)(289). La correlació entre alts nivells de TILs post QTNA i bon pronòstic només s'ha vist en el CMTN (249). En el perfil luminal, la presència de TILs en la malaltia residual després de QTNA podria explicar el seu mal pronòstic malgrat fer tractament hormonal adjuvant ja que s'ha observat que els TILs s'associen a poca resposta a l'hormonoteràpia amb inhibidors d'aromatasa (293)(294) (295).

Amb la IHQ no es poden avaluar els diferents subtipus de cèl·lules immunològiques que formen els TILs com ara cèl·lules T, cèl·lules B, *natural killer* o macròfags, cadascun dels quals, contribueix de forma diferent a l'activitat antitumoral (296); a la mostra a estudi hem analitzat els TILs estromals com indiquen les guies internacionals perquè són més abundants i més fàcils d'examinar (209).

Els TILs són una variable contínua i en funció dels estudis, s'han classificat en diferents subgrups (0-10% vs. 11-59% vs. $\geq 60\%$, <30 vs. $\geq 30\%$, <50 vs. $\geq 50\%$)(214)(229)(297). Després d'analitzar les diferents categories, vam triar la classificació dels TILs en 3 subgrups (0-10% vs. 11-59% vs. $\geq 60\%$) per l'anàlisi de la nostra mostra, basant-nos en l'estudi de *Denkert* i col (297).

Es va analitzar el valor dels TILs en 147 biòpsies pre QNTA i de les 119 mostres post QTNA que no van aconseguir pCR, el valor de TILs es va poder determinar en 117. Al perfil IHQ luminal A no es va objectivar cap pCR pel que no es va incloure a l'anàlisi estadística. A l'igual que en la literatura, aquest és el subtipus que presenta menor percentatge de pCR (139).

A la nostra sèrie, les variables de bon pronòstic com el perfil luminal, el grau histològic I i el Ki-67 baix es classificaven a la categoria de baix nivell de TILs ($p < 0.05$) i les variables de mal pronòstic com els subtipus HER2 i TN, GH III estaven al nivell de TILs intermig o alt. La categoria de baix nivell de TILs és la que va aconseguir menor percentatge de pCR estadísticament significatiu.

En el nostre estudi, l'anàlisi de regressió multivariada va demostrar que el percentatge de TILs és un paràmetre independent estadísticament significatiu per pCR (OR: 10.60; IC 95%, 1.38-81.68; $p = 0.047$) similar a la bibliografia com hem comentat prèviament.

En aquesta població, no es va poder demostrar el nivell de TILs com a biomarcador pronòstic ni en la neoadjuvència ni en la malaltia residual, probablement per la petita mostra.

A partir de les característiques clínicopatològiques del tumor associades a pCR (TILs, RA, RE, HER2, Ki-67, RNL i CA 15.3) vam realitzar un model per predicció de resposta o *score*. Aquest, va obtenir una corba ROC amb una àrea sota la corba del 88%. Aquest *score* que ens prediu la probabilitat d'aconseguir una pCR després de QTNA podria ser una eina de gran utilitat clínica per tal d'identificar aquelles pacients que es beneficiarien de tractament amb quimioteràpia i així no sobretractar-les.

6.1.2- TILs i antraciclins

La topoisomerasa 2- alfa ha estat l'únic biomarcador predictiu de resposta a antraciclins (298), però ha fallat en demostrar una utilitat clínica consistent (299). Un meta-anàlisi de 5 estudis adjuvants randomitzats va demostrar que no hi havia diferències estadísticament significatives en el benefici de la quimioteràpia basada en antraciclins vs. l'esquema CMF quan es valorava en les 3 cohorts de topoisomerasa 2- alfa (normal, delecció o ampliació) en termes de SLM ($p = 0.0513$) o SG ($p = 0.1608$) (300).

Denkert i col. (234) van publicar al 2010 un anàlisi dels TILs en una mostra de 1058 pacients diagnosticades de CM RE positius de dos grans estudis neoadjuvants (GeparDuo (145) i GeparTrio (235)). L'anàlisi de regressió multivariada va demostrar que el percentatge de TILs era un paràmetre independent estadísticament significatiu per pCR ($p = 0.012$ i $p = 0.001$ respectivament) amb percentatges de pCR del 40% i 42% respectivament, concluent que els TILs es podien utilitzar com a biomarcador de resposta a la QTNA basada en antraciclins. Més tard, al 2011 un altre estudi demostrava que el subtipus RE negatiu amb alts nivells de TILs aconseguia una pCR fins el 74 % amb QTNA basada en antraciclins (301).

El mecanisme que relaciona els TILs i la sensibilitat a antraciclins no està ben establert. Ha sorgit una teoria amb quatre hipòtesis sobre la relació entre antraciclins i la immunitat basada en observacions al laboratori i a la pràctica clínica (302)(303). La primera hipòtesi és que les antraciclins eliminen els limfòcits T reguladors (Treg) en el microambient tumoral i per tant, alleugen la inhibició de la resposta immune antitumoral (304); un segon possible mecanisme es deriva de l'observació de la limfopènia transitòria que pot estar induïda per la radioteràpia (irradiació total del cos a baixes dosis) o per fàrmacs com la ciclofosfamida. Aquesta limfopènia podria actuar afavorint la proliferació de les cèl·lules T (305); una tercera hipòtesi seria que la QT podria sensibilitzar les cèl·lules tumorals a la citotoxicitat mediada per cèl·lules T (306) i la quarta, i última hipòtesi, es basaria en que les antraciclins, a diferència d'altres citostàtics, podrien induir la mort cel·lular immunogènica i per tant funcionarien indirectament com agents immunomoduladors (307). Tanmateix, estudis preclínic recents han demostrat que els agents citotòxics neoadjuvants que inclouen antraciclins i taxans, poden desencadenar una resposta immune antitumoral per inducció de cèl·lules T citotòxiques tumor específiques (296)(308).

A la nostra mostra totes les pacients van fer QTNA amb antraciclina, ja sigui en monoteràpia 8.9% (n:13) o combinada amb taxans 91.1% (n:134).

6.1.3- TILs i obesitat

Estudis preclínic han revelat importants diferències en el microambient immune tumoral i l'adipositat en macròfags de càncer de mama (309)(310)(311). A diferència del teixit normal, les cèl·lules cancerígenes depenen predominantment de la glicòlisi anaeròbia més que de la fosforilació mitocondrial oxidativa per generar energia, degut al seu metabolisme alterat (efecte *Warburg*) (312). Aquest, permet incrementar la ingesta de glucosa per les cèl·lules tumorals. Estudis *in vivo* suggereixen que malgrat l'increment d'aquesta ingesta, la hiperglicèmia sola no pot augmentar el creixement tumoral sense la hiperinsulinèmia (313). Les persones amb DM tipus 2 tenen hiperinsulinèmia secundària a la resistència a insulina. Elevats nivells d'insulina circulant o C- pèptid (un biomarcador de la secreció d'insulina) estan fortament associats amb la progressió, recurrència i mortalitat del CM i de còlon (314); per tant, la hiperinsulinèmia més que la hiperglicèmia en diabetes, és suggestiva de contribuir a l'augment del risc de desenvolupar càncer i progressió tumoral.

L'obesitat s'ha considerat com un factor de mal pronòstic per CM (315)(316) i diversos meta-anàlisis així ho han confirmat (317)(318)(319). En el diagnòstic, s'associa a pitjor supervivència per CM i mortalitat i pot incrementar el risc de recurrència entre un 30-40% (320)(321). A més, l'augment de pes és comú després del diagnòstic de CM amb un impacte negatiu en la qualitat de vida (322). Això s'ha intentat explicar per diferents mecanismes: per una banda, l'obesitat pot augmentar els nivells d'estrogens, d'insulina i d'*insulin-like growth factor receptor* (IGFR) a la circulació que promouen el creixement tumoral (323)(324); per l'altra, les pacients obeses i amb sobrepès tenen resistència a la insulina i presenten alts nivells de citoquines pro-mitòtiques i anti- apoptòtiques que poden jugar un important paper en la resistència a QT en pacients amb CM (325). S'ha especulat que els citostàtics poden difondre's pel teixit lipídic a majors nivells i per tant reduir la quantitat de fàrmac que es necessita en la circulació i en la difusió pel teixit tumoral. Les pacients que presenten alts valors d'IMC (≥ 25) freqüentment tenen característiques tumorals de mal pronòstic com els receptors hormonals negatius i el perfil TN (326) però a més, sabem que amb QTNA l'obesitat és un factor predictiu de no pCR (327)(328) potser perquè les dosis de QT no s'administren en base a l'àrea de superfície corporal (SC) (329)(330) i sovint s'ajusten a una SC màxima de 2.

En la nostra mostra el 73% (n:49) de les pacients postmenopàusiques tenien un IMC ≥ 25 ($p=0.023$), però no vam observar diferències en quant al nivell de TILs, perfil IHQ, pCR ni percentatge de recaigudes potser perquè vam estratificar per un IMC ≥ 25 i recordem que fins a 30 és un sobrepès. En els estudis que he esmentat, molts agafen l'obesitat i no un pes inferior; aquesta és una teoria, però realment l'important seria avaluar el percentatge de massa corporal i percentatge de grassa magra per establir el valor pronòstic del pes.

6.1.4- TILs i edat

Les característiques de CM en les pacients d'edat avançada s'han descrit sovint: gran tamany tumoral (331)(332)(333)(334), freqüent infiltració cutània (333)(335), afectació axil·lar infreqüent (332)(334), alt percentatge de RH (331)(332) i baix percentatge de tumors HER2 positiu (332)(333)(334).

A la literatura, està descrit que amb l'augment de l'edat es pot reduir la immunitat de l'hoste (336). Un

estudi de Takada K i col. va demostrar que les pacients joves tenien major densitat de TILs en comparació amb les pacients d'edat avançada amb diferències en el pronòstic de manera estadísticament significativa ($p=0.002$) (337). En consonància amb aquest, un altre estudi amb 2148 dones amb CMTN localment avançat, va reportar que les pacients més grans presentaven menor percentatge de TILs comparat amb les joves ($p=0.001$) (338). He de dir que no sempre s'agafa el mateix punt de tall per edat en les publicacions prèvies. En la nostra mostra un 25% de dones majors de 60 anys no mostren diferències estadísticament significatives en funció dels TILs.

6.2- Receptor androgènic

El RA pertany a la família dels receptors hormonals esteroids nuclears. Aquesta, comprèn una de les famílies més grans de factors de transcripció amb 48 membres descrits en humans (339). La via de senyalització dels RA ha estat extensament estudiada en el càncer de pròstata, on juga un paper crucial en la seva patogènesi. La senyal androgènica es bloqueja bé per antagonistes competitiu dels receptors androgènics o per la supressió de la síntesi d'aquests com tractament del tumor.

El RA s'expressa fins a un 70%-90% en el CM (258). Sovint està co-expressat amb el RE i RPg (340) i menys freqüentment amb HER2 (252)(341). A la nostra sèrie els RA estan expressats en un 91.2% (n:134), co-expressats amb RE un 70.7% (n:104) ($p= 0.005$), amb RPg un 57.1% (n:84) ($p< 0.001$) i amb HER2 un 27.2% (n:40) dades similars a la bibliografia (251)(341). Per subtipus IHQ, en el perfil luminal (A i B) està expressat en un 53.7% (n:79) ($p<0.001$) i en el perfil TN representa un 10.2% (n:15); en aquest últim, a la literatura l'expressió de RA en CM està descrita entre un 10-50% (252)(342)(343)(344). Aquesta variabilitat depèn de la metodologia d'estudi, la població i els punts de tall del RA. Actualment no hi ha un punt de tall establert per classificar els RA en negatius o positius i en funció de l'estudi varia com s'observa en els diferents meta-anàlisis publicats (255)(256)(257)(261). Els més utilitzats són $>1%$ i $>10%$.

En la nostra sèrie, quan vam fer una classificació dels RA en 3 grups ($<1%$, $1-10%$, $\geq 10%$) basats en la publicació de Hu i col. (345), el grup RA $\geq 10%$ presentava major percentatge de RE positiu vs. negatiu, major percentatge de RPg positiu vs. negatiu, major percentatge de perfil luminal (A+B) vs. els altres i menor percentatge de pCR estadísticament significatiu com comentarem més endavant.

6.2.1- Paper predictiu i pronòstic del receptor androgènic

S'ha avaluat el paper dels RA com a biomarcador predictiu i pronòstic tant en pacients amb CM tractades amb quimioteràpia com amb hormonoteràpia (346)(347)(348)(349) i en tumors RE positius o negatius (253) (345)(348)(350) (351). S'ha reportat que a major expressió de RA hi ha una resistència a la quimioteràpia i un millor pronòstic.

El paper dels RA en la pCR és diferent que amb el nivell de TILs. En aquests últims vam observar que a major nivell, major pCR (229)(234)(352); amb els RA passa el contrari: si el RA és positiu obtenim menor pCR (353). Aquest resultat es va veure també en l'anàlisi de més de 500 biòpsies de l'estudi GeparTrio (efecte de la quimioteràpia neoadjuvant basada en antraciclins i taxans en diferents fenotips biològics de CM) (354) que va observar que els tumors amb RA positius tenien menor percentatges de pCR (12.8% vs. 25.4%, $p<0.0001$) i a l'anàlisi multivariada, l'expressió de RA afegia informació pronòstica independent per pCR. En conseqüència, en el subgrup que no va aconseguir pCR, si tenien RA positius tenien millor SLM ($p=0.045$) i SG ($p=0.021$).

En la nostra mostra, de les pacients que no van aconseguir pCR (n:119), un 90.7% ((n:108) tenien RA \geq 10% (p<0.001): 78 eren tumors luminals i del subtipus CMTN hi havia 17 pacients en total (Fig.66).

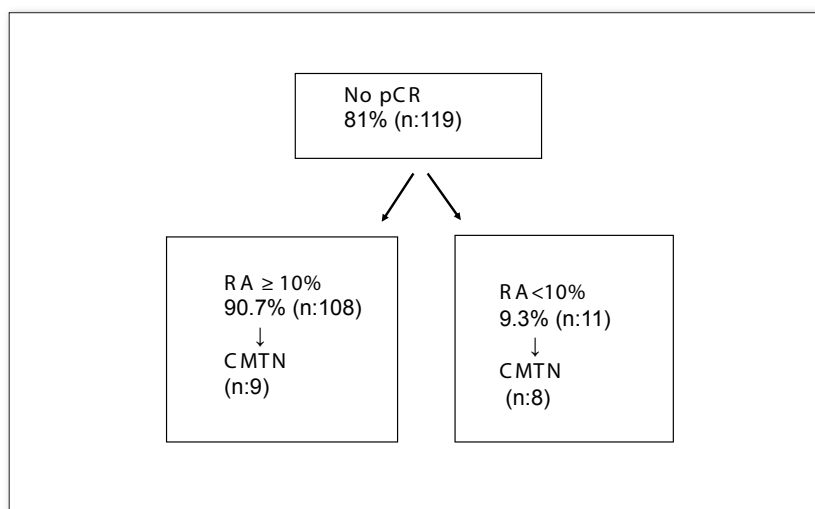


Fig. 66. Anàlisi de la no pCR en funció dels RA \geq 10% vs. <10%.

En quant al paper pronòstic dels RA, alguns estudis retrospectius han suggerit una associació entre RA i edat avançada al diagnòstic (260)(355)(356), baix grau tumoral, baix nivell de Ki-67, petit tamany tumoral, menys necrosi i menys resposta al tractament (354).

Revisarem a la nostra mostra el que va passar:

- Un 80.2% (n:101) dels RE+ i un 64.3% (n:81) dels RPg+ tenien RA \geq 10% (p<0.001). A més, el 61.9% (n:78) dels perfils IHQ luminals (A i B) també tenien els RA \geq 10%, (p<0.001).
- Un 15.1% (n:19) de les pacients que sí aconseguien una pCR tenien els RA \geq 10% (p<0.001).
- Les nostres pacients amb tumors amb Ki-67 alt tenien RA <1% (84.6%, p<0.024) (Taula 24).
- Un 75% (n:81) presentaven tumors amb grau histològic I-II i RA \geq 1% amb una tendència a la significació estadística (p= 0.062).

També es descriu en diversos meta-anàlisis un impacte pronòstic favorable en termes de SLM i SG (345) (357) si tenim el RA positiu: el de Vera- Badillo i col. amb 7.693 pacients diagnosticades de CMLA va demostrar un augment en SG estadísticament significatiu als 3 anys (OR, 0.47; IC 95%, 0.39-0.58; p<0.001) i als 5 anys (OR, 0.40; IC 95%, 0.29-0.56, p<0.001)(261); de manera similar, un altre meta-anàlisi amb CMLA independent del subtipus, va reportar resultats similars en termes de SLM (HR, 0.52; IC 95%, 0.43-0.64; p=0.058) i SG (HR, 0.66; IC 95%, 0.41-1; p=0.005)(255). Finalment, el de *Bozovic* i col. amb 17.000 pacients amb CMLA també va demostrar un millor pronòstic en termes de SLM (HR, 0.46; IC 95%, 0.37-0.58; p<0.001) i SG (HR, 0.53; IC 95%, 0.38-0.73; p<0.001) en pacients RA positius (358) (veure Taula 13). En aquests estudis s'havia administrat QTNA però el de Castellano i col. que utilitzava hormonoteràpia neoadjuvant igualment va reportar que la co-expressió de RA i RE s'associava a millors resultats, en termes de SLM i SG. La mitjana de temps a la progressió va ser de 13.22 anys en tumors RA positius i 11.72 en RA negatius (HR, 0.44; IC 95%, 0.258-0.765; p=0.003) i la SG de 13.91 vs. 12.33 anys (HR, 0.135; IC 95%, 0.054-0.337; p<0.001) respectivament (348). També va objectivar que els RA s'associaven amb positivitat del RPg, petit tamany tumoral i absència d'afectació axil·lar.

Per finalitzar aquest punt, hi ha un estudi prospectiu amb 913 pacients en el que si hi ha una expressió discordant entre RA i RE (p. ex. RE positius i RA negatius vs. RE negatius i RA positius) el pronòstic empitjora en termes de SLM (HR, 1.99; IC 95%, 1.28-3.10; $p=0.002$)(359).

En el subtipus CMTN LAR, el nivell de RA és més alt que en els altres subtipus de CMTN, de fet, té una mitjana 9 vegades major que el altres subtipus CMTN (81). Aquest s'associa amb major percentatge de SG malgrat menor percentatge de pCR (10% en el subtipus LAR vs. 28% en el subtipus CMTN en general, $p=0.043$)(360).

Quan analitzem el paper pronòstic dels RA en tots els subtipus de la nostra sèrie, observem una paradoxa; si estratifiquem el valor de RA en $<1\%$ vs. $\geq 1\%$ o bé en $<1\%$ vs. $\geq 10\%$ hi ha diferències per la SLM ($p=0.042$ i $p=0.046$ respectivament). No obstant, al classificar en $<10\%$ vs. $\geq 10\%$ o dividir en 3 grups el valor de RA això no es tradueix en el pronòstic, no veiem diferències en SLM que es podrien justificar pel petit tamany de la mostra però també perquè de la mateixa manera que passa amb els tumors RE positius, quan més positiu és el RE, millor resposta al tractament i per tant millor pronòstic. Més estrany és que l'estratificació del valor de RA, sigui en dos ($<1\%$ vs. $\geq 10\%$, $<10\%$ vs. $>10\%$) o tres categories ($<1\%$ vs. $1-10\%$ vs. $\geq 10\%$), sí té un paper pronòstic per la SG ($p=0.014$, $p=0.026$ i $p=0.019$ respectivament) (Fig. 43, Fig. 44 i Fig. 45). Lamentablement, no s'ha pogut valorar en els tumors TN l'impacte del percentatge dels RA en la SLM ni la SG.

En conclusió, en la nostra mostra podem dir que el RA és un biomarcador de quimioresistència o que pot predir una falta de resposta a la quimioteràpia mentre que es un marcador pronòstic ja que les pacients que presenten RA $>1\%$ viuen més.

6.3- Ràtio neutròfil/ limfòcit

Els neutròfils promouen la proliferació tumoral cel·lular, l'angiogènesi i les metàstasis a distància mentre que els limfòcits juguen un paper central en les reaccions immunològiques contra el tumor. La combinació d'aquestes poblacions ha resultat en la RNL. Així doncs, la RNL expressa la inflamació sistèmica i la resposta immune de l'hoste i és un paràmetre de laboratori ràpid, assequible, no invasiu, econòmic, acurat i consistent (278) que es pot utilitzar com a predictor parcial de l'eficàcia de la QTNA i probablement també a hormonoteràpia, malgrat que no hi ha gaire bibliografia en aquest últim escenari. Al 2018 es va publicar un article que analitzava el significat clínic de la RNL en pacients amb CM metastàtic tractades amb hormonoteràpia (361). En aquest estudi, es va observar que el grup que presentava una baixa RNL tenia un augment de la SLM ($p=0.003$), temps a la fallida de tractament ($p=0.031$) i SG ($p=0.013$) comparat amb el grup que presentava una alta RNL. L'anàlisi bivariada va demostrar que la resposta al tractament (HR: 4.310; IC 95%, 1.595-11.628; $p=0.004$) i una baixa RNL (HR: 3.940; IC 95% CI, 1.470-10.562; $p=0.016$) eren factors que s'associaven a bon pronòstic. També l'anàlisi multivariada va demostrar que la resposta al tractament (HR:4.329; IC 95%, 1.534-12.195; $p=0.006$) i el nivell baix de la RNL (HR: 3.930; IC 95%, 1.424-10.845; $p=0.008$) eren factors independents associats a un pronòstic favorable.

En 143 dones (un 97.3% del total) de la nostra sèrie, després de realitzar una extracció de sang perifèrica, es va poder calcular la RNL previ a l'inici de la QTNA. Es va determinar el punt de tall de la RNL en 3 (baix nivell < 3 vs. alt nivell ≥ 3) ja que era el valor més repetit en els estudis publicats (veure Taula 41).

A l'escenari de la QTNA, hi ha resultats contradictoris en la literatura en quant al paper predictiu de resposta segons la RNL. Per exemple, *Asano* i col. van objectivar en 177 pacients amb CM i QTNA que nivells baixos de RNL (<3) presentaven major pCR ($p<0.001$); aquest estudi incloïa 61 pacients amb CMTN i el 72.2% d'aquestes amb baix nivell de RNL experimentaven pCR (277). *Chae* i col. va analitzar el paper predictiu de la RNL en 87

pacients amb CMTN i va demostrar que el percentatge de pCR era més alt en pacients amb baix nivell de RNL (≤ 1.7) vs. alt nivell de RNL (42.1% vs. 18.4%, $p=0.018$); en l'anàlisi multivariada el baix nivell de la RNL era l'únic factor predictiu per pCR (OR, 4.274; IC 95%, 1.451-12.658; $p=0.008$)(362). En contra, *Qian* i col. que analitzava 180 pacients diagnosticades de CMLA va trobar que la RNL ≤ 2.15 no era un factor predictiu independent per pCR en l'anàlisi multivariada ($p=0.254$)(363). Probablement, aquesta disparitat és deguda a que el punt de tall varia en funció de l'estudi i actualment no hi ha un valor estandarditzat de la RNL.

En la nostra mostra, un 25.6% (n:22) de les pacients amb RNL <3 va aconseguir una pCR ($p=0.026$). En el subtipus CMTN, s'observa una tendència a la significació estadística ($p=0.082$) entre el baix nivell de la RNL i la pCR que probablement no es confirma pel petit tamany de l'estudi.

Els nivells alts de la RNL s'associen a un mal pronòstic. Pot ser degut a la resposta inflamatòria sistèmica crònica associada al càncer que pot conduir a un augment en el nombre absolut de neutròfils i plaquetes i una disminució dels leucòcits (278). De fet, en els últims anys, hi ha hagut un increment en el nombre d'estudis sobre els limfòcits i la seva activitat en el microambient tumoral i s'ha demostrat que alts nivells de la RNL s'associen a pitjor pronòstic en diferents cànccers (273)(276)(364)(365). Aquest paper pronòstic també s'ha observant en el CM. *Koh* i col. (272) va demostrar que alts nivells de la RNL (≥ 4) eren un indicador pronòstic independent i s'associava a major mortalitat (HR, 2.56; IC 95%, 1.91-3.42; $p<0.001$) en tots els subtipus de CM. Un altre estudi (274) també va demostrar que elevats nivells de la RNL (≥ 3.3) s'associaven a pitjor supervivència (HR, 3.13; IC 95%, 1.26-7.76; $p=0.01$). *Noh* i col. va analitzar en 442 pacients amb CMLA la RNL i va demostrar que valors ≥ 2.5 presentaven pitjor supervivència que era més evident en el subtipus luminal A (SLM als 5 anys 87.7% vs. 96.7%, $p=0.009$) (366). Un altre estudi retrospectiu espanyol va trobar la mateixa informació: en aquest cas eren 150 dones amb CMLA i tractades també amb QTNA que va demostrar que el baix nivell de la RNL (RNL < 3.33) s'associava a menor risc de recaiguda (HR, 0.39; IC 95%, 0.18-0.86; $p=0.019$) i a un augment de la supervivència (HR, 0.38; IC 95%, 0.36-0.91; $p=0.03$)(278). A l'escenari adjuvant, en concret a l'estudi GEICAM 9906 (FEC vs. FEC seguit de taxol), es va demostrar que en les 1.246 pacients incloses, alts nivells de la RNL s'associaven de manera independent amb menor SLM en el subtipus HER2 ($p=0.003$)(367). Finalment, *Orditura* i col. va demostrar que l'augment de la RNL (≥ 2.31) en 300 pacients amb CM localment avançat tractades amb QT adjuvant era un factor pronòstic independent relacionat amb pitjor pronòstic (368). A la Taula 41 es presenta un resum dels estudis anteriors.

Estudi	Indicació	Punt de tall RNL	HR (IC 95%) Mortalitat	P
Koh i col. (272)	Adjuvència/ neoadjuvència	≥ 4	2.56 (1.91-3.42)	<0.001
Azab i col. (274)	Adjuvència/ neoadjuvència	≥ 3.33	3.13 (1.26-7.76)	0.01
Noh i col. (366)	Adjuvència/ neoadjuvència	≥ 2.5	4.08 (1.62-10.28)	0.003
Marin Hernández i col. (278)	Neoadjuvència	≤ 3.33	0.38 (0.36-0.91)	0.03
Templeton i col. (367)	Adjuvència	≥ 1.35	-	-
	RH negatiu	-	1.95 (1.09-3.49)	0.023
	RH negatiu/HER2 positiu	-	2.86 (1.06-7.71)	0.038
Orditura i col. (368)	Adjuvència	≥ 1.97	2.64 (1.22-5.63)	0.013

Taula 41. Estudis que avaluen el paper pronòstic de la RNL.

Per finalitzar, també diversos meta-anàlisis han demostrat un impacte negatiu en alts nivells de la RNL en CM (280) (369)(370) que confirmen les dades anteriors (Taula 42).

Meta-anàlisi	Estudis	N	RNL Rang	Resultats	P
Wei i col. (369)	12	7.951	1.9-4	SLM: HR: 1.46; 95% CI 1.12-1.90 SG: 2.03; IC 95% 1.41-2.93	0.044 <0.001
Ethier i col. (370)	15	8.563	1.9-4	SLM: HR: 1.74; IC 95%: 1.47-2.07 SG: HR: 2.56; 95% IC: 1.96-3.35	<0.001 <0.001
Chen i col. (280)	8	4.293	2.5-4	SLM: HR: 1.38; IC 95%: 1.09-1.74 SG: HR: 2.28 (95% IC; 1.08-4.80	0.050 <0.001

Taula 42. Meta-anàlisi que avaluen el paper pronòstic de la RNL.

En el subtipus CMTN les dades són les mateixes en quant a l'impacte negatiu d'un valor alt en la RNL com ja hem comentat (277)(371); p.ex, en adjuvència, un estudi xinès amb 1.570 pacients diagnosticades de CM estadis I-III també va demostrar que el baix nivell de la RNL (≤ 2) s'associava a un augment en SLM (HR: 1.50; IC 95%, 1.14-1.97; $p=0.004$) i SG (HR: 1.63; IC 95%, 1.07-2.49; $p=0.022$) en totes les pacients i en el subtipus TN (SLM: HR: 2.58; IC 95% 1.23-5.42; $p=0.012$ i SG: HR: 3.055; IC 95% 1.08-8.61; $p=0.035$)(372).

Malauradament, en la nostra sèrie, no es van observar diferències en SLM ni SG segons la RNL en totes les pacients ni tampoc en el subgrup TN probablement pel tamany de la mostra.

Hi ha pocs estudis que analitzin la relació entre l'edat i la RNL. Un d'ells, publicat per Losada i col. va mostrar que la mitjana d'edat de les pacients amb baix nivell de la RNL és més gran que les que presenten alt nivell (278). En la mateixa línia un estudi japonès va publicar que la $RNL \geq 2.5$ s'observava en les pacients més joves (373).

En quant a la relació entre la inflamació sistèmica (RNL) i la local encara no es coneix bé i s'especula que la inflamació local del tumor pot afectar l'estat inflamatori sistèmic. Els TILs són una part important de la resposta immune local contral el càncer i són la primera defensa en els tumors sòlids (374).

En el CMTN, la RNL i els TILs, com hem comentat prèviament, es correlacionen amb el pronòstic. No obstant, hi ha pocs estudis que analitzin si aquesta interacció està associada a major pCR i augment de la supervivència (375). En la nostra sèrie, no es va observar una correlació entre la RNL i els TILs ($p=0.423$) i l'edat, l'estadiatge, el grau histològic (paràmetres tradicionals del CM) i la pCR eren similars en ambdós grups.

En conclusió, en la nostra mostra podem concloure doncs que el baix nivell de la RNL (< 3) és un biomarcador predictiu de resposta.

6.4- Paper predictiu i pronòstic de la pCR

En la nostra sèrie, hem obtingut una pCR del 19.04% (n:28) i a la bibliografia es descriu un 26% amb un esquema de QTNA amb antraciclins i taxans (135).

El subtipus que va aconseguir el percentatge més alt de pCR va ser el subtipus HER2 amb un 42.8% (n:18) (HER2 pur un 56.2% (n:9) i luminal HER2 (34.6%(n:9)), seguit del subtipus TN amb un 36.4% (n:8) i luminal B un 2.5% (n:2). Donat que el subtipus luminal A no va aconseguir cap pCR no es va incloure a l'anàlisi estadístic. Respecte als percentatges de pCR publicats a la literatura, els tumors HER2 presenten un 38% amb trastuzumab (161)(162) i actualment amb un doble bloqueig que inclou pertuzumab, és superior al 60% (165). Pel subtipus TN la pCR va ser similar al descrit a la bibliografia (pCR del 35 - 45%) (376)(377)(378).

Com ja hem comentat abans, la pCR s'ha utilitzat com a objectiu principal en molts estudis de QTNA i és un objectiu subrogat, és a dir, indirecte per a predir el benefici per la SLM i SG (141) (142)(143)(144). Basat en aquesta associació, l'any 2014 la *Food and Drug Administration* (FDA) va publicar unes guies en que recomanava l'ús de la pCR com a mesura vàlida per avaluar l'eficàcia dels fàrmacs i permetia l'aprovació accelerada de medicaments utilitzats en esquemes de QTNA (379). P.ex. pertuzumab, un fàrmac dirigit contra HER2, va ser aprovat sota aquesta premissa (380)(381).

D'altra banda, la definició de pCR no ha estat ben definida fins fa uns anys, d'aquí la gran dificultat en comparar els estudis. Actualment, es defineix com l'absència de tumor invasiu a la mama i l'aixella (ypT0/is ypN0); per tant, la presència de tumor *in situ* també es classifica com pCR (139).

Entre els mètodes més utilitzats per avaluar la pCR destaquen el mètode de *Miller i Payne* (MiP) (153) i el de *Symmans o Residual Cancer Burden* (RCB) (154); el mètode MiP és més imprecís respecte al RCB. Aquest últim, considera més variables: diàmetre del llit tumoral (determinat en mm en el seu diàmetre major i menor), percentatge de l'àrea global de cel·lularitat tumoral, percentatge de tumor que és *in situ* i el nombre de ganglis metastàsics amb el diàmetre en mm de la metastasi major. Aquest mètode és més difícil d'analitzar però cada cop s'està implementant més en la pràctica clínica habitual.

Com hem comentat en la introducció, el grup de patòlegs americà, el *Breast International Group & North American Breast Cancer Group* (BIG-NABCG) va publicar unes guies amb l'objectiu d'estandarditzar la descripció, avaluació i anàlisi de les peces d'anatomia patològica postneoadjuvànica que poguessin servir tant pels assajos clínics de QTNA (382)(383) com per a la pràctica diària. Recentment, s'ha publicat un concens per un grup de 46 patòlegs espanyols especialitzats en CM amb les recomanacions per analitzar les peces postneoadjuvànica (384) sense haver diferències amb l'anterior.

En la nostra mostra es va utilitzar el mètode MiP (actualment en desús) ja que fins a finals de 2021 no es van començar a analitzar les mostres pel mètode RCB en el servei d'anatomia patològica del nostre hospital.

El meta- anàlisi de Cortazar (139) va demostrar que la pCR s'associava amb millor SLM i SG sobretot en tumors TN tractats amb QTNA (SLM: HR, 0.24; IC 95%, 0.18-0.33 i SG: HR, 0.16; IC 95%, 0.11-0.25) i tumors HER2 positiu RH negatiu tractats amb trastuzumab i QTNA (SLM: HR, 0.15; IC 95%, 0.09-0.27 i SG: HR, 0.08; IC 95%, 0.03-0.22). Per altres subtipus, es va veure la mateixa tendència, encara que no es va aconseguir una significació estadística. En aquesta sèrie, la pCR es relaciona amb SLM ($p=0.05$) i SG ($p=0.034$). Quan ho analitzem per subtipus, només és estadísticament significatiu per SLM i SG el CMTN ($p=0.022$ i $p=0.012$ respectivament).

Mentre que les diferències en la pCR relacionades amb l'edat no s'han reportat en els assajos clínics, un anàlisi combinat va observar alts percentatges de pCR en pacients joves (385). A més a més, diferents estudis suggereixen que el percentatge de pCR disminueix amb l'edat ja que els tumors són més freqüentment grau histològic II, més RE positius i hi ha un major percentatge de tumors lobel·lars (386).

6.5- Característiques clínico-patològiques de la mostra

A l'hospital de Mataró es va iniciar la QTNA cap a l'any 2000 i la BSGS al 2002. L'elecció de les pacients per fer QTNA va ser correcta ja que el 100% presentaven un PS entre 0 - 1 amb ≤ 1 comorbilitats el 85.7% de la mostra. El 88.4% del diagnòstic va ser per autopalpació coincidint amb l'evolució de la malaltia ja que acostumen a presentar estadis més avançats al diagnòstic.

Segons la classificació IHQ, un 56.4% de les pacients presentaven un perfil luminal, 27.8% HER2 i 15% TN (70%, 20% i 15-18% respectivament a la bibliografia) (75)(76)(77).

El trastuzumab neoadjuvant es va administrar al 97.6% (n:41) de les pacients.

No hi ha cap pacient a la que s'administrés pertuzumab neoadjuvant ja que la seva aprovació pel CatSalut va ser el 2 de maig de 2017 (163)(164)(165).

6.5.1- Carcinoma lobel·lar i neoadjuvència

El 89.8% de la nostra població a estudi presentava una histologia no especial (ductal) i el 9.5% lobel·lar, similar al descrit a la literatura (387).

El primer estudi que va investigar el paper de la QTNA amb ciclofosfamida, metotrexate i fluorouracil (CMF) o ciclofosfamida, doxorubicina i fluorouracil (FAC) en estadis II-III de CMLA (388) va incloure 135 pacients de les quals 26 es van diagnosticar de CLI. Tots els tumors eren considerats molt grans per realitzar una cirurgia d'entrada. L'objectiu principal era la resposta clínica completa (RCC) i la pCR. Es va observar un 75% de RCC per CDI i un 50% per CLI ($p < 0.015$). La pCR va ser d'un 0% a la branca de CLI comparat amb el 15% per CDI ($p = 0.0066$). La CC es va poder realitzar en un 50% en les pacients amb CDI i en un 38% en les que el diagnòstic era CLI ($p = 0.0001$); finalment, la SG als 5 anys i la SLP va ser 79% i 67% respectivament per CDI i 85% i 81% respectivament per CLI. Aquests resultats van evidenciar que malgrat el CLI obtenia menor pCR comparat amb CDI, presentaven millor SG i SLM suggerint que la resposta a QTNA tenia un paper menys pronòstic per CLI que per CDI. Resultats similars es van reportar en un altre estudi retrospectiu que analitzava l'efecte de la QTNA en la pCR en un total de 860 pacients, 14% (n:118) de les quals tenien un diagnòstic de CLI (389): tots els esquemes de QTNA estaven basats en antraciclins i taxans; es va realitzar CC en un 30% de les pacients amb CLI i en un 48% de les pacients amb CDI ($p = 0.006$). La pCR es va observar en un 1% i 9% de les pacients diagnosticades de CLI i CDI respectivament ($p = 0.002$). Amb una mitjana de seguiment de 60 mesos, les dones amb CLI mostraven millor SLR comparada amb CDI (76.5% vs. 60.8%) i també millor SG (91.7% vs. 79.3%). Això demostrava una altra vegada que, mentre el CLI obtenia menor RCC i pCR amb QTNA comparat amb CDI, la supervivència era excel·lent. Finalment, un tercer estudi retrospectiu va investigar l'efecte de la QTNA basada en antraciclins i taxans en 1.895 pacients amb CM estadi I-III (1718 CDI/177 CLI) (390). Aquest estudi buscava determinar els percentatges de reducció del tumor, de CC i l'afectació dels marges quirúrgics. El tamany pre QTNA es determinava clínica i radiològicament, el diàmetre tumor residual post QTNA es determinava per l'examen patològic, l'estadiatge T era menor en 41% de CLI i 64% CDI ($p < 0.001$) i els marges quirúrgics estaven afectats més freqüentment en el CLI que en el CDI (19% vs. 11%, $p < 0.001$). La CC es va realitzar en un 19% dels CLI i en un 34% dels CDI ($p < 0.001$) i la histologia era un predictor independent per mastectomia (OR, 1.86; IC 95%, 1.15-2.99; $p = 0.01$) inclús després d'ajustar per edat, grau tumoral, diàmetre inicial, multifocalitat, estat ganglionar i estadiatge clínic. La pCR es va observar en un 3% dels CLI i un 14% dels CDI ($p < 0.001$). La histologia no estava associada a diferències significatives de SG (HR, 1.01; IC 95%, 0.7-1.47; $p = 0.9$) ni de SLM (HR, 0.92; IC 95%, 0.66-1.28; $p = 0.13$). L'estudi va concloure que la QTNA presentava menors percentatges de benefici clínic en CLI amb RH positius en termes de reducció tumoral, marges quirúrgics lliures i percentatge de CC comparat amb CDI RH positius. A la Taula 43 hi ha un resum de tots els estudis nomenats.

Mentre que el volum de literatura que descriu la resposta de CLI a QNTA és limitada, destaca que el petit percentatge de pCR en aquesta població no prediu un pitjor pronòstic estadísticament significatiu en CLI com en altres subtipus de CM (391). Avui en dia com que el percentatge de pCR per CLI és bastant baix,

s'ha de considerar evitar la QTNA donat que l'expectativa de benefici és mínima i el risc d'efectes secundaris de la QTNA són importants. Aquesta decisió s'ha de prendre en conjunt amb el pacient i l'equip quirúrgic.

N	QTNA		RESULTATS		
	CDI	CLI		CDI (%)	CLI (%)
N=135 (CDI/CLI=102/26)(388)	CMF=79 CAF=22	CMF=22 CAF=4	pCR	15%	0%
			SLM (5 anys)	67%	81%
			SG (5 anys)	79%	85%
			CC	50%	38%
N=860 (CDI/CLI=742/118) (389)	A=742 A+T=89	A=118 A+T=19	pCR	9%	1%
			SLR (anys)	60.8%	76.5%
			SG (5 anys)	79.3%	91.7%
			CC	48%	30%
N=1.895(CDI/CLI=1.718/177)(390)	A+T=1378 A=209 T=124	A+T=137 A=27 T=13	pCR	14%	3%
			Reducció tumoral	64%	41%
			CC	34%	19%

Taula 43. Estudis que avaluen el paper de la QTNA en el CLI. CMF: ciclofosfamida, metotrexate i fluorouracil; CAF: ciclofosfamida, doxorubicina i fluorouracil; A: doxorubicina; T: docetaxel.

En resum, aquesta histologia és infreqüent en la neoadjuvència perquè són tumors poc quimiosensibles, sovint multifocals que dificulten la CC i amb un alt percentatge de marges afectes; a més, el petit percentatge de pCR no és un marcador subrogat de supervivència (388)(389)(390)(391).

6.5.2- CA 15.3 i neoadjuvència

El marcador CA 15.3 (cancer antigen CA 15.3) és una glicoproteïna de la família MUC-1 que s'utilitza com a marcador tumoral i només està elevat en un 15% dels casos (392).

L'anàlisi de CA 15.3 i altres com CEA o CA 27.29 en el cribatge, diagnòstic, estadiatge i monitorització del CM en estadis inicials està molt discutit. Hi ha estudis positius a l'hora de demostrar el seu valor pronòstic (393) (394), però d'altres han resultat negatius (395)(396). Aquestes dades contradictòries poden ser degudes al petit tamany de les mostres, a estudis amb dissenys diferents o d'altres biaixos presents en cada estudi en particular (397). Investigar el valor clínic d'aquests biomarcadors amb el propòsit de descobrir la seva rellevància en el tractament preoperatori és important ja que la seva determinació és ràpida, no invasiva i reproducible.

Els estudis que descriurem a continuació, han demostrat que valors elevats de CA 15.3 i CEA preoperatori poden predir de manera independent mal pronòstic en el CM (398)(399)(400)(401)(402). La Taula 44 mostra un resum de tots ells.

El primer, amb 740 pacients diagnosticades de CM estadis I-III va analitzar el valor preoperatori de CA 15.3 i CEA i va demostrar que aquests biomarcadors s'associaven a pitjor SLM ($p=0.0014$ i $p=0.0001$ respectivament) i pitjor SG ($p=0.018$ i $p=0.015$ respectivament). A l'anàlisi multivariada, l'edat (<35 anys), el tamany tumoral (>2 cm), l'afectació ganglionar, l'expressió dels RE i l'elevació preoperatoria de CA 15.3 (HR: 2.094; IC 95%, 1.18-3.73; $p=0.012$) i CEA (HR: 2.56; IC 95%, 1.40-4.66; $p=0.002$) eren factors pronòstics independents per SLM (398). Un altre estudi amb 89 pacients amb CM estadi I-II també va demostrar que el CA 15.3 (HR: 3.2; IC 95% 2.46-5.21; $p=0.043$) i CEA (HR: 3.1; IC 95% 3.23-5.78; $p=0.05$) preoperatori presentaven pitjor pronòstic (399). Lee i col. va publicar un estudi similar amb 1681 pacients diagnosticades de CMLA i també va demostrar que

a l'anàlisi multivariada, l'edat (< 35 anys), el tamany tumoral (<2 cm), l'afectació ganglionar, l'expressió de RE i l'elevació preoperatoria de CA 15.3 i CEA eren factors pronòstics independents per SLM (CA 15.3: HR: 1.86; IC 95% 1.340-2.589; p<0.001; CEA: HR: 2.13; IC 95% 1.49-3.05; p<0.01) i SG (CA 15.3: HR: 2.020; IC 95%: 1.359.3.00; p=0.001; CEA: HR: 2.601; IC 95% 1.709-3.958; p<0.001)(400). *Imamura* i col. va publicar un estudi on va analitzar el CA 15.3 i el CEA preoperatori en 1.076 pacients diagnosticades de CM en estadis inicials. L'anàlisi multivariada també va indicar que el tamany tumoral, l'afectació ganglionar, el grau tumoral i el CEA (HR: 1.52; IC 95% 1.00-2.24; p=0.047) i CA 15.3 (HR: 2.08; IC 95%; IC 1.45-2.90; p<0.0001) eren factors independents de mal pronòstic independentment del subtipus IHQ (401). Per acabar, un estudi retrospectiu amb 74 pacients diagnosticades de CMLA va demostrar que el valor elevat de CA 15.3 preoperatori presentava pitjor resposta clínica (p=0.013) i patològica (p=0.044) i junt amb l'expressió de Her2/neu (p=0.009) i l'ILV (p=0.001) predeien una pobre resposta patològica a la QTNA (402).

En la nostra mostra el CA15.3 elevat previ a l'inici de la QTNA a l'anàlisi bivariada (OR: 3.86; IC 95% 1.45-10-3; p=0.007) i multivariada (OR: 14.89; IC 95% 2.19-101.03; p=0.006) és un factor independent predictiu de pCR, el contrari dels resultats publicats per *Al Azawi* i col. que acabem de comentar (402).

Estudi		CA 15.3	P	CEA	P
Park i col. (398)	740	HR: 2.094; IC 95%, 1.18-3.73	0.012	HR: 2.56; IC 95%, 1.40-4.66	0.002
Samy i col. (399)	89	HR: 3.2; IC 95% 2.46-5.21	0.043	HR: 3.1; IC 95% 3.23-5.78	0.05
Lee i col. (400)	1.681	SLM: HR: 1.86; IC 95% 1.340-2.589 SG: HR: 2.020; IC 95%: 1.359.3.00	<0.001 0.001	SLM: HR: 2.13; IC 95% 1.49-3.05 SG: HR: 2.601; IC 95% 1.70-3.95	<0.01 <0.001
Imamura i col. (401)	1.076	HR: 2.08; IC 95%; IC 1.45-2.90	<0.0001	HR: 1.52; IC 95% 1.00-2.24	0.047

Taula 44. Estudis que avaluen el paper dels biomarcadors CA 15.3 i CEA preoperatori.

Finalment, al 2018 es va publicar un meta-anàlisi amb gairebé 13.000 pacients que va demostrar que nivells elevats de CA 15.3 i CEA s'associaven a pitjor SLM (anàlisi multivariada CA15.3 (HR, 15.6; IC 95%, 1.06-1.55) i anàlisi multivariada CEA (HR, 1.77; IC 95% 1.53-2.04)) i SG (anàlisi multivariada CA 15.3 (HR, 2.03; IC 95% 1.76-2.33), anàlisi multivariada CEA (HR, 1.79; IC 95% 1.46-2.20)) en pacients amb CM (403); no obstant, no hi ha cap guia internacional que recomani el seu ús en estadi inicials (404).

6.5.3- Biòpsia del gangli sentinella

A l'hospital de Mataró la tècnica de la BGS en adjuvència es va iniciar al 2002 i post QTNA al 2013.

En quant a tractament local, es va realitzar CC en un 54.4% i del 45.6% de les pacients que es van realitzar una mastectomia, es van reconstruir aproximadament la meitat (21.8%).

Només es va realitzar la BGS en un 5.4%, ja que a totes les pacients amb afectació axil·lar positiva prèvia QTNA se'ls realitzava limfadenectomia. El percentatge de BGS és tan baix ja que en un principi només realitzaven QTNA les pacients amb tumors localment avançats inoperables per fer-los operables.

En relació a la indicació de la BGS en adjuvència, als anys '90 es van publicar com a mínim 7 estudis en pacients amb CM i aixella clínicament negativa (cN0) que comparava la BGS vs. limfadenectomia (103); aquests estudis, van demostrar que la BGS presentava menor morbiditat i millor qualitat de vida sense empitjorar la supervivència (405). Després de la BGS no es recomana realitzar LA si es compleixen els

següents criteris: ganglis clínicament negatius, CM T1/T2 amb 3 ó menys GS positius en les que es realitzi cirurgia conservadora (CC) i RT posterior. Aquesta indicació es va concloure en base a l'estudi ACOSOG Z0011 (406), un estudi fase III de no inferioritat que aleatoritzava a pacients amb CM T1 - T2 tractades amb CC i 1-2 GS positius a completar LA (n=445) vs. observació (N=446). Totes les pacients van rebre RT adjuvant i la majoria QT amb o sense HT. L'objectiu era incloure 1.900 pacients però es va tancar de manera prematura degut al baix ritme de reclutament i percentatge d'events. Després d'una mitjana de seguiment de 6.3 anys, la SG als 5 anys va ser del 91.8% en la branca de LA vs. 92.5% en la d'observació ($p=0.008$ per la no inferioritat), la SLM als 5 anys: 82.2% en la branca de la LA vs. 83.9% en la d'observació, diferències estadísticament significatives. Les recurrències locoregionals eren similars als 2 grups (0.5% vs. 0.9%). Encara que els resultats van ser molt interessants, aquest estudi es va criticar per diferents errors metodològics: el primer és que no va aconseguir l'objectiu de reclutament i només es van incloure 891 pacients (46,9%), ja que si s'hagués mantingut aquest objectiu, s'haguessin necessitat més de 20 anys de seguiment per observar 500 morts i així tenir el 90% de potència estadística per confirmar la no inferioritat de la BGS vs. LA; la segona va ser la violació en el protocol d'irradiació en un significatiu nombre de pacients ja que en un 18.9% de les dones es va irradiar l'aixella no dissecada i per tant van rebre tres camps d'irradiació en comptes de dos; malgrat tot això, la publicació d'aquest estudi va canviar la pràctica clínica (407)(408).

En l'escenari de la neoadjuvència, en les pacients amb aixella clínicament negativa al diagnòstic la BGS està indicada post QTNA (408). Quan hi ha afectació axil·lar inicial, la realització de la BGS postQTNA és un tema controvertit i àmpliament discutit en molts fòrums i assajos clínics. Malgrat la pCR en ganglis positius està descrita en un 40% de les pacients i en un 60-70% de les HER2 positives (409)(410), una de les principals preocupacions de la BGS postQTNA és la taxa de falsos negatius (TFN) descrita entre un 10% i un 30% i considerada innacceptablement alta (410) ja que es va validar una TFN en adjuvència del 9.8% (411). Varis estudis prospectius (l'estudi NSABP B27(412), SENTINA (413), ACOSOG Z1071(414) i SN FNAC(415)) van analitzar la TFN en pacients cN1-2 que passaven a cN0 després de QTNA. Aquests estudis van reportar una TFN del 10.7%, 14.2%, 12.6% i 8.4% respectivament amb percentatges més baixos si s'examinaven més de 3 GS (416). Un recent meta-anàlisi va analitzar la importància del nombre de GS ressecats en termes de reduir la TFN. Es van analitzar 1921 pacients en 13 estudis amb afectació ganglionar clínica pre QTNA. La TFN va disminuir del 20% (13-27%) al 12% (5-19%) i al 4% (0-9%) quan es ressecaven 1,2, 3 ó més ganglis respectivament ($p<0.001$)(417). Per reduir la TFN, els ganglis positius es podien clipar, identificar per ultrasons o mitjançant llavor radioactiva i extirpar-la durant la tècnica del GS si hi havia resposta axil·lar completa (418). Actualment, diferents estudis internacionals estan avaluant la metodologia per clipar el gangli a extreure durant la BGS post QTNA (410)(419).

El Consens de *St. Gallen* 2021 respecte a la BGS post QTNA, recomana que a les pacients que presenten aixella positiva o macrometàstasi en BGS post QTNA s'ha de realitzar una limfadenectomia. Es recomana completar la dissecció axil·lar quan hi ha una macrometàstasi (>2mm) en el GS o en un dels 3 GS (242). Les pacients sense malaltia residual a l'aixella o amb 3 ó més ganglis ressecats, no són tributàries a limfadenectomia (409)(410)(420). Actualment hi ha controvèrsia en les situacions de baixa càrrega tumoral al GS (micrometàstasi o cèl·lules aïllades en 1 dels 3 GS). Es suggereix que la RT axil·lar podria ser una alternativa a la limfadenectomia en aquestes situacions però hem d'esperar el resultat de 2 estudis fase III en marxa (421) (422) que comparen la irradiació axil·lar vs. la dissecció axil·lar per determinar si la irradiació pot substituir la cirurgia quan hi ha persistència de malaltia després de QTNA tal i com s'ha demostrat en el camp adjuvant (423). A la Fig.67 s'observa l'evolució del maneig axil·lar en el camp de la neoadjuvència.

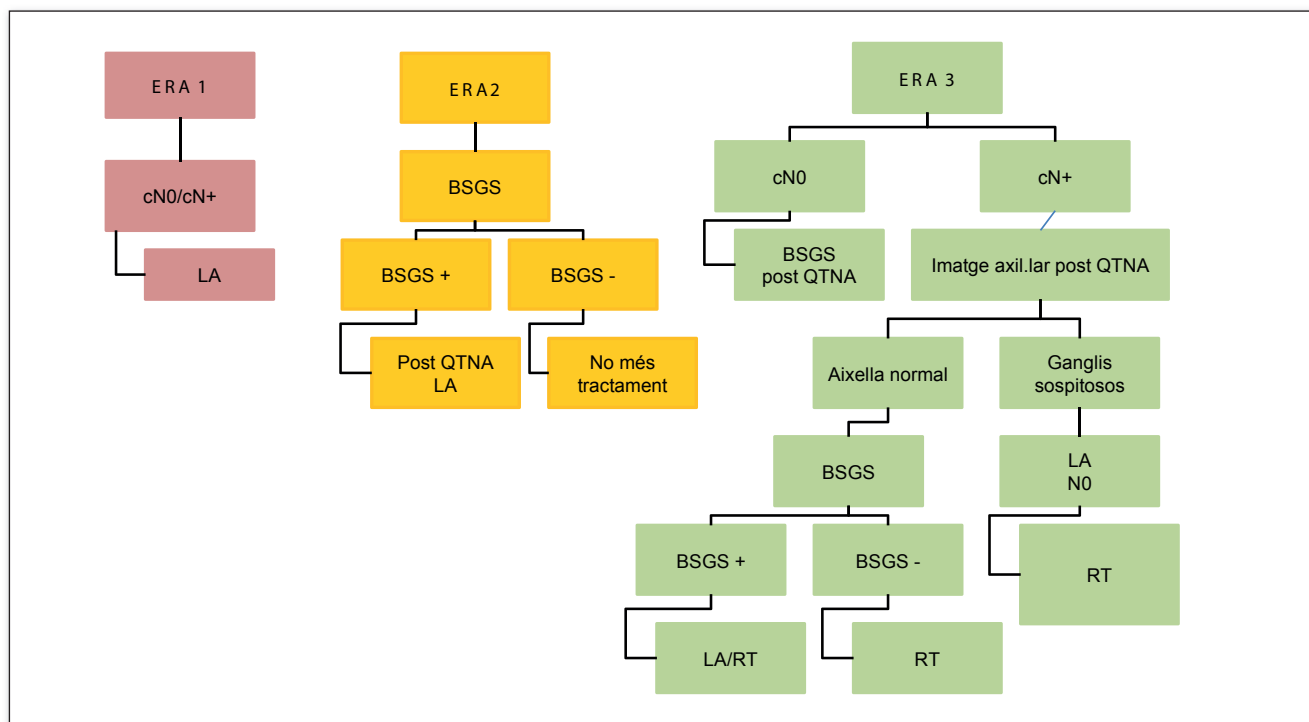


Fig. 67. Evolució del maneig axil·lar en el camp de la neoadjuvència. LA: limfadenectomia, BSGS: biòpsia del gangli sentinella, RT: radioteràpia (modificat de 424).

Com a conclusió final i després d'aquesta exhaustiva anàlisi de la nostra base de dades he fet un algoritme terapèutic per les pacients candidates a QTNA (Fig. 68).

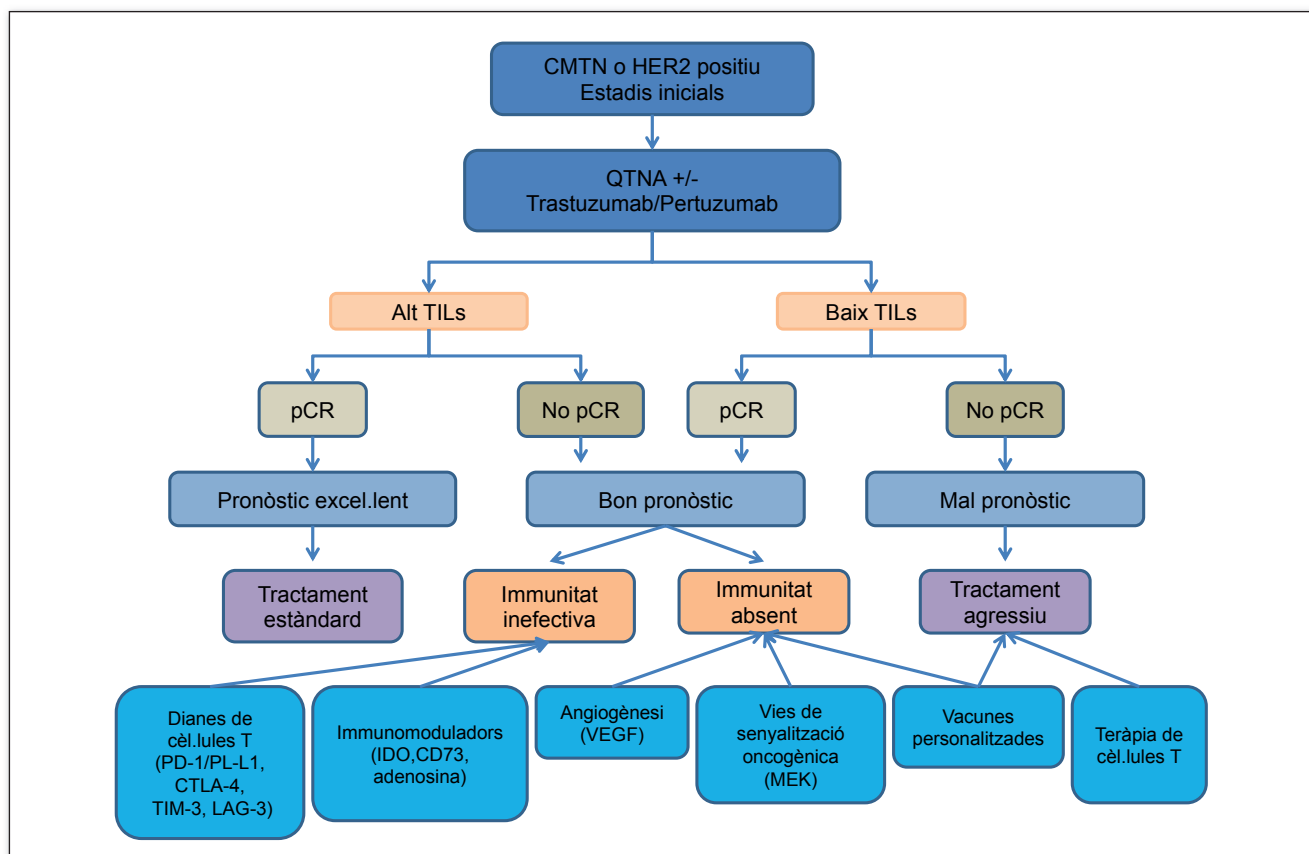


Fig. 68. Adaptació de l'autora (425). Algoritme de tractament en les pacients amb CMLA en funció dels TILs i la pCR.

6.6- Fortaleses i debilitats

Fortaleses

Aquest estudi ens fa conèixer i reflexionar sobre el paper dels TILs com a biomarcador en el CM que junt amb els altres factors predictius ja establerts ens ajuden a individualitzar el tractament de les pacients amb CMLA. No sols augmentar la pCR i, per tant, la supervivència sinó també disminuir la toxicitat. Altres paràmetres com els RA i la RNL no tan coneguts com els TILs també poden ser factors predictius i pronòstics validats en sèries més grans i assajos clínics.

Aquesta revisió ens ha permès conèixer el perfil de les pacients de la nostra àrea del Maresme amb CMLA; però el més important ha estat realitzar un estudi acadèmic en un hospital comarcal on l'activitat sobretot és assistencial amb les limitacions i dificultats que això comporta.

Malgrat el tamany de la mostra, hem pogut dissenyar un *score* o model de puntuació per predir la pCR després de la QTNA que evidentment s'hauria de validar en una mostra més gran i en un estudi multicèntric.

Debilitats

De la mostra inicial que teníem amb 241 pacients, es van haver d'excloure 80 ja que el diagnòstic va ser per PAAF i no per BAG i això va reduir de manera important la nostra sèrie. Com ja hem comentat prèviament, al nostre hospital es va començar a realitzar BAG pre QTNA al 2014 de manera sistemàtica.

Aquest és un estudi observacional retrospectiu que només permet plantejar hipòtesis per ser validades en una mostra major. Al ser retrospectiu fa que els resultats s'hagin de valorar amb cautela, independentment del nombre de pacients incloses, degut a la probable existència de biaixos (com factors de confusió no controlats o biaixos de selecció o d'informació, entre d'altres).

CONCLUSIONS

7- CONCLUSIONS

- 1- El nostre estudi demostra que el nivell de TILs pot ser un biomarcador predictiu de resposta ja que alts nivells s'associen a un augment de pCR amb QTNA en tots els subtipus analitzats. Per tant, els nostres resultats recolzen la hipòtesi que el CM és immunogènic. És veritat que es considera un tumor "fred" amb pocs neoantigens però pot tenir dianes per teràpies immunomoduladores.

No podem demostrar que els nivells de TILs són un factor pronòstic ja que no tenen impacte en la supervivència.

- 2- A la nostra mostra el RA és un marcador predictiu de no pCR i per tant de quimioresistència. A més, els RA són un biomarcador pronòstic en el subtipus TN.
- 3- La RNL < 3 és un marcador predictiu de resposta però no pronòstic.
- 4- La pCR s'associa a augment de SLM i SG en tota la mostra i per subtipus en el CMTN.

LÍNIAS DE FUTUR

8- LÍNIES DE FUTUR

La capacitat dels TILs per actuar com a potencial biomarcador predictiu i pronòstic pot donar moltes oportunitats en el futur pel seu ús rutinari en la pràctica clínica habitual i en el disseny d'assajos clínics:

- En l'escenari neoadjuvant podrien permetre una predicció més acurada d'aconseguir pCR amb QTNA. Hem dissenyat un model de puntuació o *score* per predir la pCR amb variables anatomo-patològiques després de la QTNA per posteriorment validar en una mostra més gran.
- En l'adjuvència, es podrien incorporar en models de predicció de risc utilitzats pels clínics per decidir el benefici de la QT en aquest escenari.
- Potser en les pacients metastàsiques degut a que ha sigut poc explorat el seu paper (426), podrien aportar associacions predictives i pronòstiques.
- Explorar el paper pronòstic dels TILs en cohorts luminals en tractament amb hormonoteràpia i estudiar la interacció del sistema immune amb diferents tipus de tractament endocrí.
- En un futur pròxim, desescalar el tractament en pacients amb alts nivells de TILs. Es podrien fer models per predir el risc de recurrència que incorporessin paràmetres relacionats amb TILs. Aquests models derivarien de l'anàlisi de grans estudis adjuvants i neoadjuvants.
- Investigar el paper dels TILs en la gent gran.
- Investigar la interacció dels TILs i l'obesitat.

BIBLIOGRAFIA

9- BIBLIOGRAFIA

1. Torre LA, Siegel RL, Ward EM, Jemal A. Global Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends-An Update. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2016 Jan;25:16-27.
2. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Dyba T, Randi G, Bettio M, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018. Vol. 103, *European Journal of Cancer. Eur J Cancer.* 2018;103:356-387.
3. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021 May;71(3):209-249
4. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin.* 2020 Jan;70(1):7–30.
5. Las cifras del cáncer en España 2022. [Internet]. Madrid. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). [cited 2022 June 14]. 2022. 38 p. Available from: https://seom.org/images/LAS_CIFRAS_DEL_CANCER_EN_ESPANA_2022.pdf
6. Chacón López-Muñiz JI, de la Cruz Merino L, Gavilá Gregori J, Martínez Dueñas E, Oliveira M, Seguí Palmer MA, et al. SEOM clinical guidelines in advanced and recurrent breast cancer (2018). *Clin Transl Oncol.* 2019 Jan;21(1):31–45.
7. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Bishop K, Altekruse SF, Kosary CL, Yu M, Ruhl J, Tatalovich Z, Mariotto A, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2013, National Cancer Institute. Bethesda, MD. [cited 2022 June 14]. Available from: https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2013/, based on November 2015 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2016.
8. Clavel-Chapelon F, Gerber M. Reproductive factors and breast cancer risk. Do they differ according to age at diagnosis? *Breast Cancer Res Treat.* 2002;72(2):107–15.
9. Cancer Stat Facts: Female Breast Cancer. [Internet]. Washington, D.C. National Cancer Institute. Surveillance, Epidemiology and End Results Program. [Cited 2022 June 14] Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/breast.html>
10. Titus-Ernstoff L, Longnecker MP, Newcomb PA, Dain B, Greenberg ER, Mittendorf R, et al. Menstrual factors in relation to breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1998;7(9):783–9.
11. Hamajima N, Hirose K, Tajima K, Rohan T, Friedenreich CM, Calle EE, et al. Menarche, menopause, and breast cancer risk: Individual participant meta-analysis, including 118 964 women with breast cancer from 117 epidemiological studies. *Lancet Oncol.* 2012;13(11):1141–51.
12. Turnbull C, Rahman N. Genetic predisposition to breast cancer: Past, present, and future. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2008;9:321-45.
13. Chen S, Parmigiani G. Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 penetrance. *J Clin Oncol.* 2007 Apr;25(11):1329–33.
14. Hoang LN, Gilks BC. Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome: Moving beyond BRCA1 and BRCA2. *Adv Anat Pathol.* 2018 Mar;25(2):85-95.
15. Degnim AC, Visscher DW, Berman HK, Frost MH, Sellers TA, Vierkant RA, et al. Stratification of breast cancer risk in women with atypia: A mayo cohort study. *J Clin Oncol.* 2007 Jul;25(19):2671–7.
16. Hunter A. Mammographic density: The risk and detection of breast cancer. *J Biolaw Bus.* 2007;10:60–1.

17. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin*. 2018 Jan;68(1):7–30.
18. Harper S, Lynch J, Meersman SC, Breen N, Davis WW, Reichman MC. Trends in area-socioeconomic and race-ethnic disparities in breast cancer incidence, stage at diagnosis, screening, mortality, and survival among women ages 50 years and over (1987-2005). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009 Jan;18(1):121–31.
19. Protani M, Coory M, Martin JH. Effect of obesity on survival of women with breast cancer: Systematic review and meta-Analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2010 Oct;123(3):627-35.
20. Renehan AG, Zwahlen M, Egger M. Adiposity and cancer risk: New mechanistic insights from epidemiology. *Nat Rev Cancer*. 2015 Aug;15(8):484-98.
21. Larsson SC, Mantzoros CS, Wolk A. Diabetes mellitus and risk of breast cancer: A meta-analysis. *Int J Cancer*. 2007 Aug;121(4):856–62.
22. Scully T, Ettela A, LeRoith D, Gallagher EJ. Obesity, Type 2 Diabetes, and Cancer Risk. *Front Oncol*. 2021 Feb 2;10:615375.
23. Chen WY, Rosner B, Hankinson SE, Colditz GA, Willett WC. Moderate alcohol consumption during adult life, drinking patterns, and breast cancer risk. *JAMA*. 2011 Nov 2;306(17):1884-90.
24. Terry MB, Delgado-Cruzata L, Vin-Raviv N, Wu HC, Santella RM. DNA methylation in white blood cells: Association with risk factors in epidemiologic studies. *Epigenetics*. 2011;6(7):828–37.
25. Alm El-Din MA, El-Badawy SA, Taghian AG. Breast Cancer After Treatment of Hodgkin's Lymphoma: General Review. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2008 Dec 1;72(5):1291-7.
26. Preston DL, Ron E, Tokuoka S, Funamoto S, Nishi N, Soda M, et al. Solid cancer incidence in atomic bomb survivors: 1958-1998. *Radiat Res*. 2007 Jul;168(1):1–64.
27. Russo J, Moral R, Balogh GA, Mailo D, Russo IH. The protective role of pregnancy in breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2005;7(3):131-42.
28. Niell BL, Freer PE, Weinfurtner RJ, Arleo EK, Drukteinis JS. Screening for Breast Cancer. *Radiol Clin North Am*. 2017 Nov;55(6):1145-1162.
29. Rosselli Del Turco M, Ponti A, Bick U, Biganzoli L, Cserni G, Cutuli B, et al. Quality indicators in breast cancer care. *Eur J Cancer*. 2010 Sep;46(13):2344–56.
30. Nelson HD, Fu R, Cantor A, Pappas M, Daeges M, Humphrey L. Effectiveness of breast cancer screening: Systematic review and meta-analysis to update the 2009 U.S. Preventive services task force recommendation. *Ann Intern Med*. 2016 Feb 16;164(4):244-55.
31. Myers ER, Moorman P, Gierisch JM, Havrilesky LJ, Grimm LJ, Ghatge S, et al. Benefits and harms of breast cancer screening: A systematic review. *JAMA*. 2015 Oct 20;314(15):1615-34.
32. Balleyguier C, Ayadi S, Van Nguyen K, Vanel D, Dromain C, Sigal R. BIRADS TM classification in mammography. *Eur J Radiol*. 2007 Feb;61(2):192–4.
33. Spak DA, Plaxco JS, Santiago L, Dryden MJ, Dogan BE. BI-RADS® fifth edition: A summary of changes. *Diagn Interv Imaging*. 2017 Mar;98(3):179-190.
34. American College of Radiology. Breast imaging reporting and data system (BI-RADS). Reston, VA: American College of Radiology; 1995.
35. Mercado CL. BI-RADS Update. *Radiol Clin North Am*. 2014 May;52(3):481-7.
36. Houssami N, MacAskill P, Von Minckwitz G, Marinovich ML, Mamounas E. Meta-analysis of the association of breast cancer subtype and pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Cancer*. 2012 Dec;48(18):3342–54.

37. Mann RM, Kuhl CK, Moy L. Contrast-enhanced MRI for breast cancer screening. *J Magn Reson Imaging*. 2019 Aug;50(2):377-390.
38. Houssami N, Turner R, Morrow M. Preoperative magnetic resonance imaging in breast cancer: Meta-analysis of surgical outcomes. *Ann Surg*. 2013 Feb;257(2):249-55.
39. Ditsch N, Untch M, Thill M, Müller V, Janni W, Albert US, et al. AGO Recommendations for the Diagnosis and Treatment of Patients with Early Breast Cancer: Update 2019. *Breast Care*. 2019 Aug;14(4):224-45.
40. Dixon JM, Lamb J, Anderson TJ. Fine needle aspiration of the breast: importance of the operator. *Lancet*. 1983 Sep 3;2(8349):564.
41. Kooistra B, Wauters C, Wobbes T, Strobbe L. Conclusiveness of fine needle aspiration in 2419 histologically confirmed benign and malignant breast lesions. *Breast*. 2011;20(3):229-32.
42. Cusick JD, Dotan J, Jaecks RD, Boyle WT. The role of Tru-Cut® needle biopsy in the diagnosis of carcinoma of the breast. *Surg Gynecol Obstet*. 1990;170(5):407-10.
43. Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, Tan PH, van de Vijver MJ. WHO Classification of Tumours of the Breast. 4. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2012. 236 p.
44. Allison KH, Brogi E, Ellis IO, Fox SB, Lakhani SR, Lax SF et al. WHO Classification of Tumours Breast Tumours 5th ed, vol 2. Lyon, France: IARC Press, 2019. 356 p.
45. Dunnwald LK, Rossing MA, Li CI. Hormone receptor status, tumor characteristics, and prognosis: A prospective cohort of breast cancer patients. *Breast Cancer Res*. 2007;9(1):R6.
46. Hammond ME, Hayes DF, Wolff AC, Mangu PB, Temin S. American society of clinical oncology/college of american pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Oncol Pract*. 2010 Jul;6(4):195-7.
47. Manni A, Arafah B, Pearson OH. Estrogen and progesterone receptors in the prediction of response of breast cancer to endocrine therapy. *Cancer*. 1980 Dec;46(12 S):2838-41.
48. Abe O, Abe R, Enomoto K, Kikuchi K, Koyama H, Masuda H, et al. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: An overview of the randomised trials. *Lancet*. 2005 May;365(9472):1687-717.
49. Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. Vol. 2, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. Nat Rev Mol Cell Biol. 2001 Feb;2(2):127-37.
50. 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 Jan 9;235(4785):177-82.
51. Perez EA, Suman VJ, Davidson NE, Martino S, Kaufman PA, Lingle WL, et al. HER2 testing by local, central, and reference laboratories in specimens from the north central cancer treatment group N9831 intergroup adjuvant trial. *J Clin Oncol*. 2006 Jul;24(19):3032-8.
52. Black LE, Longo JF, Carroll SL. Mechanisms of Receptor Tyrosine-Protein Kinase ErbB-3 (ERBB3) Action in Human Neoplasia. *Am J Pathol*. 2019 Oct;189(10):1898-1912.
53. Polley MYC, Leung SCY, Gao D, Mastropasqua MG, Zabaglo LA, Bartlett JMS, et al. An international study to increase concordance in Ki67 scoring. *Mod Pathol*. 2015 Jun;28(6):778-86.
54. Petrelli F, Viale G, Cabiddu M, Barni S. Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 64,196 patients. *Breast Cancer Res Treat*. 2015 Oct;153(3):477-91.

55. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart MJ, Thürlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: Highlights of the st gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast Cancer 2013. *Ann Oncol*. 2013 Sep;24(9):2206–23.
56. Harris LN, Ismaila N, McShane LM, Hayes DF. Use of biomarkers to guide decisions on adjuvant systemic therapy for women with early-stage invasive breast cancer: American society of clinical oncology clinical practice guideline summary. *J Oncol Pract*. 2016 Apr;12(4):384–9.
57. Polley MYC, Leung SCY, McShane LM, Gao D, Hugh JC, Mastropasqua MG, et al. An international ki67 reproducibility study. *J Natl Cancer Inst*. 2013 Dec;105(24):1897–906.
58. Rakha EA, El-Sayed ME, Menon S, Green AR, Lee AHS, Ellis IO. Histologic grading is an independent prognostic factor in invasive lobular carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res Treat*. 2008 Sep;111(1):121–7.
59. Rakha EA, Van Deurzen CHM, Paish EC, MacMillan RD, Ellis IO, Lee AHS. Pleomorphic lobular carcinoma of the breast: Is it a prognostically significant pathological subtype independent of histological grade? *Mod Pathol*. 2013 Apr;26(4):496–501.
60. 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(4):207.
61. Frierson HF, Wolber RA, Berean KW, Franquemont DW, Gaffey MJ, Boyd JC, et al. Interobserver reproducibility of the Nottingham modification of the bloom and Richardson histologic grading scheme for infiltrating ductal carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 1995;103(2):195–8.
62. 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(8):873–9.
63. Filho OM, Ignatiadis M, Sotiriou C. Genomic Grade Index: An important tool for assessing breast cancer tumor grade and prognosis. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2011 Jan;77(1):20-9.
64. Knuttel FM, Menezes GLG, Van Diest PJ, Witkamp AJ, Van Den Bosch MAAJ, Verkooijen HM. Meta-analysis of the concordance of histological grade of breast cancer between core needle biopsy and surgical excision specimen. *Br J Surg*. 2016 May;103(6):644–55.
65. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer*. 1989;63(1):181–7.
66. Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn HJ, et al. Meeting Highlights: International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2005. *Ann Oncol*. 2005 Oct;16(10):1569-83.
67. Silverstein MJ, Skinner KA, Lomis TJ. Predicting axillary nodal positivity in 2282 patients with breast carcinoma. *World J Surg*. 2001;25(6):767–72.
68. Rivadeneira DE, Simmons RM, Christos PJ, Hanna K, Daly JM, Osborne MP. Predictive factors associated with axillary lymph node metastases in T1a and T1b breast carcinomas: Analysis in more than 900 patients. *J Am Coll Surg*. 2000;191(1):1–6.
69. Fisher B, Bauer M, Wickerham DL, Redmond CK, Fisher ER, Cruz AB, et al. Relation of number of positive axillary nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer. An NSABP update. *Cancer*. 1983;52(9):1551–7.
70. Schnitt SJ, Abner A, Gelman R, Connolly JL, Recht A, Duda RB, et al. The relationship between microscopic margins of resection and the risk of local recurrence in patients with breast cancer treated with breast conserving surgery and radiation therapy. *Cancer*. 1994;74(6):1746–51.

71. Park CC, Mitsumori M, Nixon A, Recht A, Connolly J, Gelman R, et al. Outcome at 8 years after breast-conserving surgery and radiation therapy for invasive breast cancer: Influence of margin status and systemic therapy on local recurrence. *J Clin Oncol*. 2000;18(8):1668–75.
72. Singletary SE. Surgical margins in patients with early-stage breast cancer treated with breast conservation therapy. *Am J Surg*. 2002 Nov;184(5):383–93.
73. Rakha EA, Martin S, Lee AHS, Morgan D, Pharoah PDP, Hodi Z, et al. The prognostic significance of lymphovascular invasion in invasive breast carcinoma. *Cancer*. 2012 Aug;118(15):3670–80.
74. Hortobagyi GN, Connolly JL, D’Orsi CS et al. Breast. American Joint Committee on Cancer (AJCC). In: Amin MB, Edge SB, Greene FL, Byrd DL, Brookland RK, Washington MK et al. *AJCC Cancer Staging Manual*, 8th ed. New York: Springer. 2017. 588-628 p.
75. Howlader N, Altekruse SF, Li CI, Chen VW, Clarke CA, Ries LAG, et al. US incidence of breast cancer subtypes defined by joint hormone receptor and HER2 status. *J Natl Cancer Inst*. 2014 May;106(5).
76. 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 Oct;353(16):1659–72.
77. Denkert C, Liedtke C, Tutt A, von Minckwitz G. Molecular alterations in triple-negative breast cancer the road to new treatment strategies. *Lancet*. 2017 Jun 17;389(10087):2430-2442.
78. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, Van De Rijn M, Jeffrey SS, Renshaw CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000 Aug;406(6797):747–52.
79. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, Gelber RD, Gnant M, Piccart-Gebhart MJ, et al. Tailoring therapies—improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015. *Ann Oncol*. 2015 Aug;26(8):1533–46.
80. Abramson VG, Lehmann BD, Ballinger TJ, Pietenpol JA. Subtyping of triple-negative breast cancer: Implications for therapy. *Cancer*. 2015 Jan 1;121(1):8-16.
81. Lehmann BD, Pietenpol JA. Identification and use of biomarkers in treatment strategies for triple-negative breast cancer subtypes. *J Pathol*. 2014 Jan;232(2):142-50.
82. Reddy TP, Rosato RR, Li X, Moulder S, Piwnicka-Worms H, Chang JC. A comprehensive overview of metaplastic breast cancer: clinical features and molecular aberrations. *Breast Cancer Res*. 2020 Nov 4;22(1):121.
83. Sharma P. Biology and Management of Patients With Triple-Negative Breast Cancer. *Oncologist*. 2016 Sep;21(9):1050–62.
84. Ahn SG, Kim SJ, Kim C, Jeong J. Molecular classification of triple-negative breast cancer. *J Breast Cancer*. 2016 Sep;19(3):223-230.
85. Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2010 Nov;363(20):1938–48.
86. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kahn HK, Sawka CA, et al. Triple-negative breast cancer: Clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res*. 2007 Aug;13(15):4429–34.
87. Von Minckwitz G, Untch M, Blohmer JU, Costa SD, Eidtmann H, Fasching PA, et al. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J Clin Oncol*. 2012 May;30(15):1796–804.
88. Lin NU, Claus E, Sohl J, Razzak AR, Arnaout A, Winer EP. Sites of distant recurrence and clinical outcomes in patients with metastatic triple-negative breast cancer: High incidence of central nervous system metastases. *Cancer*. 2008 Nov;113(10):2638–45.

89. Moasser MM. The oncogene HER2: Its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis. *Oncogene*. 2007 Oct 4;26(45):6469-87.
90. Lin NU, Winer EP. Brain metastases: The HER2 paradigm. Vol. 13, *Clinical Cancer Research*. Clin Cancer Res. 2007 Mar 15;13(6):1648-55.
91. Cossetti RJD, Tyldesley SK, Speers CH, Zheng Y, Gelmon KA. Comparison of breast cancer recurrence and outcome patterns between patients treated from 1986 to 1992 and from 2004 to 2008. *J Clin Oncol*. 2014 Nov;33(1):65-73.
92. Veronesi U, Cascinelli N, Mariani L, Greco M, Saccozzi R, Luini A, et al. Twenty-year follow-up of a randomized study comparing breast-conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer. *N Engl J Med*. 2002 Oct;347(16):1227-32.
93. Fisher B, Anderson S, Bryant J, Margolese RG, Deutsch M, Fisher ER, et al. Twenty-Year Follow-up of a Randomized Trial Comparing Total Mastectomy, Lumpectomy, and Lumpectomy plus Irradiation for the Treatment of Invasive Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2002 Oct;347(16):1233-41.
94. American Cancer Society. *Breast Cancer Clear and Simple: all your questions answered*. 2nd Ed. Atlanta; 2016. 210 p.
95. Halsted WS. The results of operations for the cure of cancer of the breast performed at the Johns Hopkins Hospital from June, 1889, to January 1894. *Ann Surg*. 1894 Jul;20(5):497-555.
96. Fisher B, Jeong J-H, Anderson S, Bryant J, Fisher ER, Wolmark N. Twenty-Five-Year Follow-up of a Randomized Trial Comparing Radical Mastectomy, Total Mastectomy, and Total Mastectomy Followed by Irradiation. *N Engl J Med*. 2002 Aug;347(8):567-75.
97. Tokin C, Weiss A, Wang-Rodriguez J, Blair SL. Oncologic safety of skin-sparing and nipple-sparing mastectomy: A discussion and review of the literature. *Int J Surg Oncol*. 2012;2012:921821.
98. Peled AW, Foster RD, Stover AC, Itakura K, Ewing CA, Alvarado M, et al. Outcomes after total skin-sparing mastectomy and immediate reconstruction in 657 breasts. *Ann Surg Oncol*. 2012 Oct;19(11):3402-9.
99. Munhoz AM, Montag E, Filassi JR, Gemperli R. Immediate nipple-Areola-sparing mastectomy reconstruction: An update on oncological and reconstruction techniques. Vol. 5, *World J Clin Oncol*. 2014 Aug 10;5(3):478-94.
100. Lyman GH, Somerfield MR, Bosserman LD, Perkins CL, Weaver DL, Giuliano AE. Sentinel lymph node biopsy for patients with early-stage breast cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*. 2017 Feb;35(5):561-4.
101. DiSipio T, Rye S, Newman B, Hayes S. Incidence of unilateral arm lymphoedema after breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol*. 2013 May;14(6):500-15.
102. Rao R, Euhus D, Mayo HG, Balch C. Axillary node interventions in breast cancer: A systematic review. *JAMA*. 2013 Oct 2;310(13):1385-94.
103. Salama JK, Heimann R, Lin F, Mehta N, Chmura SJ, Singh R, et al. Does the number of lymph nodes examined in patients with lymph node-negative breast carcinoma have prognostic significance? *Cancer*. 2005 Feb;103(4):664-71.
104. Bromham N, Schmidt-Hansen M, Astin M, Hasler E, Reed MW. Axillary treatment for operable primary breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Jan 4;1(1):CD004561.
105. Mersin H, Yildirim E, Bulut H, Berberoğlu U. The prognostic significance of total lymph node number in patients with axillary lymph node-negative breast cancer. *Eur J Surg Oncol*. 2003;29(2):132-8.

106. Wittekind C, Greene FL, Hunter RVP, Klimpfinger M, Sobin LH. Atlas TNM. Guía ilustrada de la clasificación TNM y pTNM de los tumores malignos. Traducción de TNM Atlas 5ª edición. Ediciones Journal. 2007.
107. Darby S, McGale P, Correa C, Taylor C, Arriagada R, Clarke M, et al. Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: Meta-analysis of individual patient data for 10 801 women in 17 randomised trials. *Lancet*. 2011 Nov;378(9804):1707–16.
108. Fisher B, Dignam J, Wolmark N, Mamounas E, Costantino J, Poller W, et al. Lumpectomy and radiation therapy for the treatment of intraductal breast cancer: Findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B- 17. *J Clin Oncol*. 1998;16(2):441–52.
109. Veronesi U, Salvadori B, Luini A, Greco M, Saccozzi R, del Vecchio M, et al. Breast conservation is a safe method in patients with small cancer of the breast. Long-term results of three randomised trials on 1,973 patients. *Eur J Cancer*. 1995;31(10):1574–9.
110. Haviland JS, Owen JR, Dewar JA, Agrawal RK, Barrett J, Barrett-Lee PJ, et al. The UK Standardisation of Breast Radiotherapy (START) trials of radiotherapy hypofractionation for treatment of early breast cancer: 10-year follow-up results of two randomised controlled trials. *Lancet Oncol*. 2013 Oct;14(11):1086–94.
111. Whelan TJ, Pignol J-P, Levine MN, Julian JA, MacKenzie R, Parpia S, et al. Long-Term Results of Hypofractionated Radiation Therapy for Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2010 Feb;362(6):513–20.
112. Smith BD, Bentzen SM, Correa CR, Hahn CA, Hardenbergh PH, Ibbott GS, et al. Fractionation for whole breast irradiation: An American society for radiation oncology (ASTRO) evidence-based guideline. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2011 Sep;81(1):59–68.
113. Polgár C, Ott OJ, Hildebrandt G, Kauer-Dorner D, Knauerhase H, Major T, et al. Late side-effects and cosmetic results of accelerated partial breast irradiation with interstitial brachytherapy versus whole-breast irradiation after breast-conserving surgery for low-risk invasive and in-situ carcinoma of the female breast: 5-year resul. *Lancet Oncol*. 2017 Feb;18(2):259–68.
114. Schäfer R, Strnad V, Polgár C, Uter W, Hildebrandt G, Ott OJ, et al. Quality-of-life results for accelerated partial breast irradiation with interstitial brachytherapy versus whole-breast irradiation in early breast cancer after breast-conserving surgery (GEC-ESTRO): 5-year results of a randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2018 Jun;19(6):834–44.
115. Huang EH, Tucker SL, Strom EA, McNeese MD, Kuerer HM, Hortobagyi GN, et al. Predictors of locoregional recurrence in patients with locally advanced breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy, mastectomy, and radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2005 Jun;62(2):351–7.
116. Correa C, Harris EE, Leonardi MC, Smith BD, Taghian AG, Thompson AM, et al. Accelerated Partial Breast Irradiation: Executive summary for the update of an ASTRO Evidence-Based Consensus Statement. *Pract Radiat Oncol*. 2017 Mar;7(2):73–9.
117. Mamounas EP, Anderson SJ, Dignam JJ, Bear HD, Julian TB, Geyer CE, et al. Predictors of locoregional recurrence after neoadjuvant chemotherapy: Results from combined analysis of national surgical adjuvant breast and bowel project B-18 and B-27. *J Clin Oncol*. 2012 Nov;30(32):3960–6.
118. Gradishar WJ, Moran MS, Abraham J, Aft R, Agnese D, Allison KH, et al. Breast cancer, version 4.2021 featured updates to the NCCN guidelines. *JNCCN J Natl Compr Cancer Netw*. 2021 May;19(5):484–94.
119. Ayala de la Peña F, Andrés R, Garcia-Sáenz JA, Manso L, Margelí M, Dalmau E, et al. SEOM clinical guidelines in early stage breast cancer (2018). *Clin Transl Oncol*. 2019 Jan;21(1):18–30.

120. Taylor C, Duane FK, Dodwell D, Gray R, Wang Z, Wang Y, et al. Estimating the Risks of Breast cancer radiotherapy: Evidence from modern radiation doses to the lungs and Heart and From previous randomized trials. *J Clin Oncol*. 2017 May;35(15):1641–9.
121. Meric F, Buchholz TA, Mirza NQ, Vlastos G, Ames FC, Ross MI, et al. Long-term complications associated with breast-conservation surgery and radiotherapy. *Ann Surg Oncol*. 2002 Jul;9(6):543–9.
122. Wo J, Taghian A. Radiotherapy in Setting of Collagen Vascular Disease. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2007 Dec 1;69(5):1347-53.
123. Semiglazov VFV V., Semiglazov VFV V., Dashyan GA, Ziltsova EK, Ivanov VG, Bozhok AA, et al. Phase 2 randomized trial of primary endocrine therapy versus chemotherapy in postmenopausal patients with estrogen receptor-positive breast cancer. *Cancer*. 2007 Jul;110(2):244–54.
124. Alba E, Calvo L, Albanell J, De la Haba JR, Arcusa Lanza A, Chacon JI, et al. Chemotherapy (CT) and hormone therapy (HT) as neoadjuvant treatment in luminal breast cancer patients: Results from the GEICAM/2006-03, a multicenter, randomized, phase-II study. *Ann Oncol*. 2012 Dec;23(12):3069–74.
125. 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 Oct;100(19):1380–8.
126. Ellis MJ, Ma C. Letrozole in the neoadjuvant setting: The P024 trial. *Breast Cancer Res Treat*. 2007;105 Suppl 1(Suppl 1):33-43.
127. 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 Nov;12(11):1527–32.
128. Spring LM, Gupta A, Reynolds KL, Gadd MA, Ellisen LW, Isakoff SJ, et al. Neoadjuvant endocrine therapy for estrogen receptor-positive breast cancer a systematic review and meta-Analysis. *JAMA Oncol*. 2016 Nov 1;2(11):1477-1486.
129. Ellis MJ, Suman VJ, Hoog J, Lin L, Snider J, Prat A, et al. Randomized phase II neoadjuvant comparison between letrozole, anastrozole, and exemestane for postmenopausal women with estrogen receptor-rich stage 2 to 3 breast cancer: Clinical and biomarker outcomes and predictive value of the baseline PAM50-based int. *J Clin Oncol*. 2011 Jun;29(17):2342–9.
130. Carpenter R, Doughty JC, Cordiner C, Moss N, Gandhi A, Wilson C, et al. Optimum duration of neoadjuvant letrozole to permit breast conserving surgery. *Breast Cancer Res Treat*. 2014;144(3):569–76.
131. Dixon JM, Renshaw L, MacAskill EJ, Young O, Murray J, Cameron D, et al. Increase in response rate by prolonged treatment with neoadjuvant letrozole. *Breast Cancer Res Treat*. 2009 Jan;113(1):145–51.
132. Llombart-Cussac A, Guerrero Á, Galán A, Carañana V, Buch E, Rodríguez-Lescure Á, et al. Phase II trial with letrozole to maximum response as primary systemic therapy in postmenopausal patients with ER/PgR[+] operable breast cancer. *Clin Transl Oncol*. 2012 Feb;14(2):125–31.
133. Kaufmann M, von Minckwitz G, Smith R, Valero V, Gianni L, Eiermann W, et al. International Expert Panel on the Use of Primary (Preoperative) Systemic Treatment of Operable Breast Cancer: Review and Recommendations. *J Clin Oncol*. 2003 Jul;21(13):2600–8.
134. Korde LA, Somerfield MR, Carey LA, Crews JR, Denduluri N, Hwang ES, et al. Neoadjuvant Chemotherapy, Endocrine Therapy, and Targeted Therapy for Breast Cancer: ASCO Guideline. *J Clin Oncol*. 2021 May;39(13):1485–505.

135. Mauri D, Pavlidis N, Ioannidis JPA. Neoadjuvant versus adjuvant systemic treatment in breast cancer: A meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2005 Feb;97(3):188–94.
136. Rastogi P, Anderson SJ, Bear HD, Geyer CE, Kahlenberg MS, Robidoux A, et al. Preoperative chemotherapy: Updates of national surgical adjuvant breast and bowel project protocols B-18 and B-27. Vol. 26, *Journal of Clinical Oncology.* *J Clin Oncol*; 2008. p. 778–85.
137. Asselain B, Barlow W, Bartlett J, Bergh J, Bergsten-Nordström E, Bliss J, et al. Long-term outcomes for neoadjuvant versus adjuvant chemotherapy in early breast cancer: meta-analysis of individual patient data from ten randomised trials. *Lancet Oncol.* 2018 Jan;19(1):27–39.
138. Derks MGM, van de Velde CJH. Neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: more than just downsizing. *Lancet Oncol.* 2018 Jan;19(1):2-3.
139. Cortazar P, Zhang L, Untch M, Mehta K, Costantino JP, Wolmark N, et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet.* 2014 Jul;384(9938):164–72.
140. Fisher B, Bryant J, Wolmark N, Mamounas E, Brown A, Fisher ER, et al. Effect of preoperative chemotherapy on the outcome of women with operable breast cancer. *J Clin Oncol.* 1998 Aug;16(8):2672–85.
141. Kong X, Moran MS, Zhang N, Haffty B, Yang Q. Meta-analysis confirms achieving pathological complete response after neoadjuvant chemotherapy predicts favourable prognosis for breast cancer patients. *Eur J Cancer.* 2011;47(14):2084–90.
142. Untch M, Möbus V, Kuhn W, Muck BR, Thomssen C, Bauerfeind I, et al. Intensive dose-dense compared with conventionally scheduled preoperative chemotherapy for high-risk primary breast cancer. *J Clin Oncol.* 2009;27(18):2938–45.
143. Gianni L, Baselga J, Eiermann W, Porta VG, Semiglazov V, Lluch A, et al. Phase III Trial Evaluating the Addition of Paclitaxel to Doxorubicin Followed by Cyclophosphamide, Methotrexate, and Fluorouracil, As Adjuvant or Primary Systemic Therapy: European Cooperative Trial in Operable Breast Cancer. *J Clin Oncol.* 2009 May;27(15):2474–81.
144. Bonnefoi H, Piccart M, Bogaerts J, Mauriac L, Fumoleau P, Brain E, et al. TP53 status for prediction of sensitivity to taxane versus non-taxane neoadjuvant chemotherapy in breast cancer (EORTC 10994/BIG 1-00): A randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2011;12(6):527–39.
145. Von Minckwitz G, Raab G, Caputo A, Schütte M, Hilfrich J, Blohmer JU, et al. Doxorubicin with cyclophosphamide followed by docetaxel every 21 days compared with doxorubicin and docetaxel every 14 days as preoperative treatment in operable breast cancer: The GEPAR DUO study of the German Breast Group. *J Clin Oncol.* 2005 Apr;23(12):2676–85.
146. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, André F, Tordai A, Mejia JA, et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol.* 2008 Mar;26(8):1275–81.
147. Baker GM, King TA, Schnitt SJ. Evaluation of breast and axillary lymph node specimens in breast cancer patients treated with neoadjuvant systemic therapy. *Adv Anat Pathol.* 2019 Jul;26(4):221-234.
148. Wolmark N, Wang J, Mamounas E, Bryant J, Fisher B. Preoperative chemotherapy in patients with operable breast cancer: nine-year results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2001;(30):96–102.
149. Sataloff DM, Mason Ba, Prestipino AJ, Seinige UI, Lieber CP BZ. Pathologic response to induction chemotherapy in locally advanced carcinoma of the breast: a determinant of outcome. *J AM Coll Surg.* 180(3):297–306.

150. Chevallier B, Roche H, Olivier JP, Collet P HP. Inflammatory breast cancer. Pilot study of intensive induction chemotherapy (FEC-HD) results in high histologic response rate. *Am J Clin Oncol*. 16(3):223–8.
151. Pinder SE, Provenzano E, Earl H, Ellis IO. Laboratory handling and histology reporting of breast specimens from patients who have received neoadjuvant chemotherapy. *Histopathology*. 2007 Mar;50(4):409-17.
152. Chollet P, Abrial C, Durando X, Thivat E, Tacca O, Mouret-Reynier MA, et al. A New Prognostic Classification After Primary Chemotherapy for Breast Cancer : Residual Disease in Breast. *Cancer J*. 2008 Mar;14(2):1–3.
153. Ogston KN, Miller ID, Payne S, Hutcheon AW, Sarkar TK, Smith I, et al. A new histological grading system to assess response of breast cancers to primary chemotherapy: Prognostic significance and survival. *Breast*. 2003;12(5):320–7.
154. Symmans WF, Peintinger F, Hatzis C, Rajan R, Kuerer H, Valero V, et al. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2007;25(28):4414–22.
155. Provenzano E, Bossuyt V, Viale G, Cameron D, Badve S, Denkert C, et al. Standardization of pathologic evaluation and reporting of postneoadjuvant specimens in clinical trials of breast cancer: Recommendations from an international working group. Vol. 28, *Modern Pathology*. *Mod Pathol*. 2015 Sep;28(9):1185-201.
156. Bossuyt V, Provenzano E, Symmans WF, Boughey JC, Coles C, Curigliano G, et al. Recommendations for standardized pathological characterization of residual disease for neoadjuvant clinical trials of breast cancer by the BIG-NABCG collaboration. *Ann Oncol*. 2015 Jul;26(7):1280–91.
157. Albain K, Anderson S, Arriagada R, Barlow W, Bergh J, Bliss J, et al. Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: Meta-analyses of long-term outcome among 100 000 women in 123 randomised trials. *Lancet*. 2012 Feb;379(9814):432–44.
158. Denkert C, Loibl S, Müller BM, Eidtmann H, Schmitt WD, Eiermann W, et al. Ki67 levels as predictive and prognostic parameters in pretherapeutic breast cancer core biopsies: a translational investigation in the neoadjuvant GeparTrio trial. *Ann Oncol*. 2013 Nov;24(11):2786–93.
159. Klauschen F, Wienert S, Schmitt WD, Loibl S, Gerber B, Blohmer J-U, et al. Standardized Ki67 Diagnostics Using Automated Scoring—Clinical Validation in the GeparTrio Breast Cancer Study. *Clin Cancer Res*. 2015 Aug;21(16):3651–7.
160. Lazaridis G, Pentheroudakis G, Pavlidis N. Integrating trastuzumab in the neoadjuvant treatment of primary breast cancer: Accumulating evidence of efficacy, synergy and safety. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2008 Apr;66(1):31–41.
161. Buzdar AU, Ibrahim NK, Francis D, Booser DJ, Thomas ES, Theriault RL, et al. Significantly higher pathologic complete remission rate after neoadjuvant therapy with trastuzumab, paclitaxel, and epirubicin chemotherapy: Results of a randomized trial in human epidermal growth factor receptor 2-positive operable breast cancer. *J Clin Oncol*. 2005;23(16):3676–85.
162. Gianni L, Eiermann W, Semiglazov V, Manikhas A, Lluch A, Tjulandin S, et al. Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (the NOAH trial): a randomised controlled superiority trial with a parallel HER. *Lancet*. 2010;375(9712):377–84.
163. Gianni L, Eiermann W, Semiglazov V, Lluch A, Tjulandin S, Zambetti M, et al. Neoadjuvant and adjuvant trastuzumab in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (NOAH): Follow-

- up of a randomised controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort. *Lancet Oncol.* 2014;15(6):640–7.
164. Gianni L, Pienkowski T, Im YH, Roman L, Tseng LM, Liu MC, et al. Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): A randomised multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2012 Jan;13(1):25–32.
 165. Schneeweiss A, Chia S, Hickish T, Harvey V, Eniu A, Hegg R, et al. Pertuzumab plus trastuzumab in combination with standard neoadjuvant anthracycline-containing and anthracycline-free chemotherapy regimens in patients with HER2-positive early breast cancer: A randomized phase II cardiac safety study (TRYPHAENA). *Ann Oncol.* 2013 Sep;24(9):2278–84.
 166. Swain SM, Ewer MS, Viale G, Delaloge S, Ferrero JM, Verrill M, et al. Pertuzumab, trastuzumab, and standard anthracycline- and taxane-based chemotherapy for the neoadjuvant treatment of patients with HER2-positive localized breast cancer (BERENICE): A phase II, open-label, multicenter, multinational cardiac safety study. *Ann Oncol.* 2018 Mar;29(3):646–53.
 167. Baselga J, Bradbury I, Eidtmann H, Di Cosimo S, de Azambuja E, Aura C, et al. Lapatinib with trastuzumab for HER2-positive early breast cancer (NeoALTTO): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet.* 2012 Feb;379(9816):633–40.
 168. Robidoux A, Tang G, Rastogi P, Geyer CE, Azar CA, Atkins JN, et al. Lapatinib as a component of neoadjuvant therapy for HER2-positive operable breast cancer (NSABP protocol B-41): An open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2013 Nov;14(12):1183–92.
 169. Carey LA, Berry DA, Cirincione CT, Barry WT, Pitcher BN, Harris LN, et al. Molecular heterogeneity and response to neoadjuvant human epidermal growth factor receptor 2 targeting in CALGB 40601, a randomized phase III trial of paclitaxel plus trastuzumab with or without lapatinib. *J Clin Oncol.* 2016 Feb;34(6):542–9.
 170. Goss PE, Smith IE, O'Shaughnessy J, Ejlertsen B, Kaufmann M, Boyle F, Buzdar AU, Fumoleau P, Gradishar W, Martin M, Moy B, Piccart-Gebhart M, Pritchard KI, Lindquist D, Chavarri-Guerra Y, Aktan G, Rappold E, Williams LS, Finkelstein DM; TEACH investigators. Adjuvant lapatinib for women with early-stage HER2-positive breast cancer: a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2013 Jan;14(1):88–96.
 171. Okines AFC, Cunningham D. Trastuzumab: A novel standard option for patients with HER-2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer. *Therap Adv Gastroenterol.* 2012;5(5):301–18.
 172. Nyman DW, Campbell KJ, Hersh E, Long K, Richardson K, Trieu V, et al. Phase I and pharmacokinetics trial of ABI-007, a novel nanoparticle formulation of paclitaxel in patients with advanced nonhematologic malignancies. *J Clin Oncol.* 2005;23(31):7785–93.
 173. Gradishar WJ, Krasnojon D, Cheporov S, Makhson AN, Manikhas GM, Clawson A, et al. Significantly longer progression-free survival with nab-paclitaxel compared with docetaxel as first-line therapy for metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2009 Aug;27(22):3611–9.
 174. Gardner ER, Dahut WL, Scripture CD, Jones J, Aragon-Ching JB, Desai N, et al. Randomized crossover pharmacokinetic study of solvent-based paclitaxel and nab-paclitaxel. *Clin Cancer Res.* 2008 Jul;14(13):4200–5.
 175. Chen N, Li Y, Ye Y, Palmisano M, Chopra R, Zhou S. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of nab-paclitaxel in patients with solid tumors: Disposition kinetics and pharmacology distinct from solvent-based paclitaxel. *J Clin Pharmacol.* 2014;54(10):1097–107.

176. Gradishar WJ, Tjulandin S, Davidson N, Shaw H, Desai N, Bhar P, et al. Phase III trial of nanoparticle albumin-bound paclitaxel compared with polyethylated castor oil-based paclitaxel in women with breast cancer. *J Clin Oncol*. 2005;23(31):7794–803.
177. Rugo HS, Barry WT, Moreno-Aspitia A, Lyss AP, Cirrincione C, Leung E, et al. Randomized phase III trial of paclitaxel once per week compared with nanoparticle albumin-bound nab-paclitaxel once per week or ixabepilone with bevacizumab as first-line chemotherapy for locally recurrent or metastatic breast cancer: CALGB 40502/NCCTG N0. *J Clin Oncol*. 2015 Jul;33(21):2361–9.
178. Untch M, Jackisch C, Schneeweiss A, Conrad B, Aktas B, Denkert C, et al. Nab-paclitaxel versus solvent-based paclitaxel in neoadjuvant chemotherapy for early breast cancer (GeparSepto-GBG 69): A randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2016 Mar;17(3):345–56.
179. Aktas BY, Taban H, Aksoy S. Atezolizumab and Nab-Paclitaxel in Advanced Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2019 Mar;380(10):985–8.
180. Desai N. Nanoparticle Albumin-Bound Paclitaxel (Abraxane®) In: Otagiri M, Chuang V. (eds) *Albumin in Medicine*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2016; p. 101–119.
181. Gonzalez-Angulo AM, Timms KM, Liu S, Chen H, Litton JK, Potter J, et al. Incidence and outcome of BRCA mutations in unselected patients with triple receptor-negative breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2011 Mar;17(5):1082–9.
182. Turner N, Tutt A, Ashworth A. Hallmarks of “BRCAness” in sporadic cancers. Vol. 4, *Nature Reviews Cancer*. *Nat Rev Cancer*. 2004 Oct;4(10):814-9.
183. De Summa S, Pinto R, Sambiasi D, Petriella D, Paradiso V, Paradiso A, et al. BRCAness: A deeper insight into basal-like breast tumors. *Ann Oncol*. 2013 Nov;24 Suppl 8:viii13-viii21.
184. Xu Y, Diao L, Chen Y, Liu Y, Wang C, Ouyang T, et al. Promoter methylation of BRCA1 in triple-negative breast cancer predicts sensitivity to adjuvant chemotherapy. *Ann Oncol*. 2013 Jun;24(6):1498–505.
185. Silver DP, Richardson AL, Eklund AC, Wang ZC, Szallasi Z, Li Q, et al. Efficacy of neoadjuvant cisplatin in triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol*. 2010 Mar;28(7):1145–53.
186. Byrski T, Huzarski T, Dent R, Marczyk E, Jasiowka M, Gronwald J, et al. Pathologic complete response to neoadjuvant cisplatin in BRCA1-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*. 2014 Sep;147(2):401–5.
187. Campbell JI, Yau C, Krass P, Moore D, Carey LA, Au A, et al. Comparison of residual cancer burden, American Joint Committee on Cancer staging and pathologic complete response in breast cancer after neoadjuvant chemotherapy: results from the I-SPY 1 TRIAL (CALGB 150007/150012; ACRIN 6657). *Breast Cancer Res Treat*. 2017 Aug;165(1):181–91.
188. Von Minckwitz G, Schneeweiss A, Loibl S, Salat C, Denkert C, Rezai M, et al. Neoadjuvant carboplatin in patients with triple-negative and HER2-positive early breast cancer (GeparSixto; GBG 66): A randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2014 Jun;15(7):747–56.
189. Wang LY, Xie H, Zhou H, Yao WX, Zhao X, Wang Y. Efficacy of carboplatin-based preoperative chemotherapy for triple-negative breast cancer: A meta-analysis of randomized controlled trials. Vol. 38, *Saudi Medical Journal*. Saudi Arabian Armed Forces Hospital; 2017. p. 18–23.
190. Caramelo O, Silva C, Caramelo F, Frutuoso C, Almeida-Santos T. The effect of neoadjuvant platinum-based chemotherapy in BRCA mutated triple negative breast cancers -systematic review and meta-analysis. *Hered Cancer Clin Pract*. 2019 Mar 25;17:11.

191. Loibl S, O'Shaughnessy J, Untch M, Sikov WM, Rugo HS, McKee MD, et al. Addition of the PARP inhibitor veliparib plus carboplatin or carboplatin alone to standard neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer (BrighTNess): a randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2018 Apr;19(4):497–509.
192. Loibl S, Sikov W, Huober J, Rugo HS, Wolmark N, O'Shaughnessy J, et al. Event-free survival (EFS), overall survival (OS), and safety of adding veliparib (V) plus carboplatin (Cb) or carboplatin alone to neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer (TNBC) after ≥ 4 years of follow-up: BrighTNess, a randomized phase III trial. *Ann Oncol.* 2021;32(suppl 5): S408–S408.
193. Schmid P, Rugo HS, Adams S, Schneeweiss A, Barrios CH, Iwata H, et al. Atezolizumab plus nab-paclitaxel as first-line treatment for unresectable, locally advanced or metastatic triple-negative breast cancer (IMpassion130): updated efficacy results from a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2020 Jan;21(1):44–59.
194. Gianne L, Huang CS, Egle D, Bermejo B, Zamagni C, Thill M et al. Pathologic complete response (pCR) to neoadjuvant treatment with or without atezolizumab in triple negative, early high-risk and locally advanced breast cancer. NeoTRIPaPDL1 Michelangelo randomized study. In: San Antonio Breast Cancer Symposium; San Antonio. *Cancer Research*; 2019;80(4 sup 5): GS3-04.
195. Schmid P, Cortes J, Pusztai L, McArthur H, Kümmel S, Bergh J, et al. Pembrolizumab for Early Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2020 Feb;382(9):810–21.
196. European Medicines Agency. EU Clinical Trials Register [internet]. [cited 2022 June 14]. Available from: <https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search>
197. Spring LM, Fell G, Arfe A, Sharma C, Greenup R, Reynolds KL, et al. Pathologic Complete Response after Neoadjuvant Chemotherapy and Impact on Breast Cancer Recurrence and Survival: A Comprehensive Meta-analysis. *Clin Cancer Res.* 2020 Jun;26(12):2838–48.
198. Masuda N, Lee S-J, Ohtani S, Im Y-H, Lee E-S, Yokota I, et al. Adjuvant Capecitabine for Breast Cancer after Preoperative Chemotherapy. *N Engl J Med.* 2017 Jun;376(22):2147–59.
199. Lluch A, Barrios CH, Torrecillas L, Ruiz-Borrego M, Bines J, Segalla J, et al. Phase III Trial of Adjuvant Capecitabine After Standard Neo-/Adjuvant Chemotherapy in Patients With Early Triple-Negative Breast Cancer (GEICAM/2003-11_CIBOMA/2004-01). *J Clin Oncol.* 2020 Jan;38(3):203–13.
200. Mayer IA, Zhao F, Arteaga CL, Symmans WF, Park BH, Burnette BL, et al. Randomized Phase III Postoperative Trial of Platinum-Based Chemotherapy Versus Capecitabine in Patients with Residual Triple-Negative Breast Cancer following Neoadjuvant Chemotherapy: ECOG-ACRIN EA1131. *J Clin Oncol.* 2021 Aug;39(23):2539–51.
201. LoRusso PM, Weiss D, Guardino E, Girish S, Sliwkowski MX. Trastuzumab emtansine: A unique antibody-drug conjugate in development for human epidermal growth factor receptor 2-positive cancer. Vol. 17, *Clinical Cancer Research*. *Clin Cancer Res*; 2011. p. 6437–47.
202. von Minckwitz G, Huang C-S, Mano MS, Loibl S, Mamounas EP, Untch M, et al. Trastuzumab Emtansine for Residual Invasive HER2-Positive Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2019 Feb;380(7):617–28.
203. Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rubio IT, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2019 Aug;30(8):1194–220.
204. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell.* 2011;144(5):646–74.
205. Zitvogel L, Tesniere A, Apetoh L, Ghiringhelli F, Kroemer G. Immunological aspects of anticancer chemotherapy. *Bull Acad Natl Med.* 2008 Oct;192(7):1469–89.

206. Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesniere A, Criollo A, Ortiz C, Lidereau R, et al. The interaction between HMGB1 and TLR4 dictates the outcome of anticancer chemotherapy and radiotherapy. *Immunol Rev.* 2007 Dec;220:47-59.
207. Abbas A, Lichtman A, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology*. 10th ed. Elsevier 2021. 618p.
208. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: Integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science.* 2011 Mar25;331(6024):1565-70.
209. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: Recommendations by an International TILS Working Group 2014. *Ann Oncol.* 2015;26(2):259-71.
210. Seo AN, Lee HJE, Kim EJ, Kim HJ, Jang MH, Lee HJE, et al. Tumour-infiltrating CD8+ lymphocytes as an independent predictive factor for pathological complete response to primary systemic therapy in breast cancer. *Br J Cancer.* 2013 Nov;109(10):2705-13.
211. Sota Y, Naoi Y, Tsunashima R, Kagara N, Shimazu K, Maruyama N, et al. Construction of novel immune-related signature for prediction of pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy in human breast cancer. *Ann Oncol.* 2014 Jan;25(1):100-6.
212. Dieu-Nosjean MC, Antoine M, Danel C, Heudes D, Wislez M, Poulot V, et al. Long-term survival for patients with non-small-cell lung cancer with intratumoral lymphoid structures. *J Clin Oncol.* 2008 Sep;26(27):4410-7.
213. Sistrunk WE, Maccarty WC. Life expectancy following radical amputation for carcinoma of the breast: A clinical and pathologic study of 218 cases. *Ann Surg.* 1922 Jan;75(1):61-9.
214. Loi S, Sirtaine N, Piette F, Salgado R, Viale G, Van Eenoo F, et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98. *J Clin Oncol.* 2013 Mar;31(7):860-7.
215. Ali HR, Provenzano E, Dawson SJ, Blows FM, Liu B, Shah M, et al. Association between CD8+ T-cell infiltration and breast cancer survival in 12 439 patients. *Ann Oncol.* 2014 Aug;25(8):1536-43.
216. Loi S, Michiels S, Salgado R, Sirtaine N, Jose V, Fumagalli D, et al. Tumor infiltrating lymphocytes are prognostic in triple negative breast cancer and predictive for trastuzumab benefit in early breast cancer: Results from the FinHER trial. *Ann Oncol.* 2014;25(8):1544-50.
217. Adams S, Gray RJ, Demaria S, Goldstein L, Perez EA, Shulman LN, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancers from two phase III randomized adjuvant breast cancer trials: ECOG 2197 and ECOG 1199. *J Clin Oncol.* 2014 Sep;32(27):2959-66.
218. Salgado R, Denkert C, Campbell C, Savas P, Nuciforo P, Aura C, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and associations with pathological complete response and event-free survival in HER2-positive early-stage breast cancer treated with lapatinib and trastuzumab: A secondary analysis of the NeoALTTO trial. *JAMA Oncol.* 2015 Jul;1(4):448-55.
219. Pruneri G, Vingiani A, Bagnardi V, Rotmensz N, De Rose A, Palazzo A, et al. Clinical validity of tumor-infiltrating lymphocytes analysis in patients with triple-negative breast cancer. *Ann Oncol.* 2016;27(2):249-56.
220. Yamaguchi R, Tanaka M, Yano A, Tse GM, Yamaguchi M, Koura K, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes are important pathologic predictors for neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer. *Hum Pathol.* 2012 Oct;43(10):1688-94.

221. Mao Y, Qu Q, Chen X, Huang O, Wu J, Shen K. The prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer: A systematic review and meta-analysis. Tagliabue E, editor. *PLoS One*. 2016 Apr;11(4):1–13.
222. Perez EA, Ballman KV, Tenner KS, Thompson EA, Badve SS, Bailey H, et al. Association of stromal tumor-infiltrating lymphocytes with recurrence-free survival in the n9831 adjuvant trial in patients with early-stage HER2-positive breast cancer. *JAMA Oncol*. 2016 Jan;2(1):56–64.
223. Pruneri G, Gray KP, Vingiani A, Viale G, Curigliano G, Criscitiello C, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) are a powerful prognostic marker in patients with triple-negative breast cancer enrolled in the IBCSG phase III randomized clinical trial 22-00. *Breast Cancer Res Treat*. 2016 Jul;158(2):323–31.
224. Francis P, Crown J, Di Leo A, Buyse M, Balil A, Andersson M, et al. Adjuvant chemotherapy with sequential or concurrent anthracycline and docetaxel: Breast International Group 02-98 randomized trial. *J Natl Cancer Inst*. 2008 Jan;100(2):121–33.
225. Joensuu H, Bono P, Kataja V, Alanko T, Kokko R, Asola R, et al. Fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide with either docetaxel or vinorelbine, with or without trastuzumab, as adjuvant treatments of breast cancer: Final results of the FinHer trial. *J Clin Oncol*. 2009;27(34):5685–92.
226. Goldstein LJ, O'Neill A, Sparano J, Perez E, Shulman L, Martino S, et al. E2197: Phase III AT (doxorubicin/docetaxel) vs. AC (doxorubicin/cyclophosphamide) in the adjuvant treatment of node positive and high risk node negative breast cancer. *J Clin Oncol*. 2005;23(suppl S):7S-7S p.
227. Sparano JA, Wang M, Martino S, Jones V, Perez E, Saphner T, et al. Phase III study of doxorubicin-cyclophosphamide followed by paclitaxel or docetaxel given every 3 weeks or weekly in operable breast cancer: Results of Intergroup Trial E1199. *J Clin Oncol*. 2007 Jun;25(18_suppl):516–516.
228. Romond EH, Perez EA, Bryant J, Suman VJ, Geyer CE, Davidson NE, et al. Trastuzumab plus Adjuvant Chemotherapy for Operable HER2-Positive Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2005 Oct;353(16):1673–84.
229. Denkert C, Von Minckwitz G, Brase JC, Sinn B V., Gade S, Kronenwett R, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and response to neoadjuvant chemotherapy with or without carboplatin in human epidermal growth factor receptor 2-positive and triple-negative primary breast cancers. *J Clin Oncol*. 2015 Apr;33(9):983–91.
230. Colleoni M, Gray KP, Gelber S, Láng I, Thürlimann B, Gianni L, et al. Low-dose oral cyclophosphamide and methotrexate maintenance for hormone receptor-negative early breast cancer: International Breast Cancer Study Group Trial 22-00. *J Clin Oncol*. 2016 Oct;34(28):3400–8.
231. Von Minckwitz G, Kümmel S, Vogel P, Hanusch C, Eidtmann H, Hilfrich J, et al. Neoadjuvant vinorelbine-capecitabine versus docetaxel-doxorubicin- cyclophosphamide in early nonresponsive breast cancer: Phase III randomized gepartrio trial. *J Natl Cancer Inst*. 2008 Apr;100(8):542–51.
232. Von Minckwitz G, Rezai M, Loibl S, Fasching PA, Huober J, Tesch H, et al. Capecitabine in addition to anthracycline- and taxane-based neoadjuvant treatment in patients with primary breast cancer: Phase III GeparQuattro study. *J Clin Oncol*. 2010 Apr;28(12):2015–23.
233. Untch M, Loibl S, Bischoff J, Eidtmann H, Kaufmann M, Blohmer JU, et al. Lapatinib versus trastuzumab in combination with neoadjuvant anthracycline-taxane-based chemotherapy (GeparQuinto, GBG 44): A randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2012 Feb;13(2):135–44.
234. Denkert C, Loibl S, Noske A, Roller M, Müller BM, Komor M, et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28(1):105–13.

235. Heppner BI, Untch M, Denkert C, Pfitzner BM, Lederer B, Schmitt W, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes: A predictive and prognostic biomarker in neoadjuvant-treated HER2-positive breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2016 Dec;22(23):5747–54.
236. Guarneri V, Frassoldati A, Bottini A, Cagossi K, Bisagni G, Sarti S, et al. Preoperative chemotherapy plus trastuzumab, lapatinib, or both in human epidermal growth factor receptor 2-positive operable breast cancer: Results of the randomized phase II CHER-LOB study. *J Clin Oncol.* 2012 Jun;30(16):1989–95.
237. Dieci MV, Prat A, Tagliafico E, Paré L, Ficarra G, Bisagni G, et al. Integrated evaluation of PAM50 subtypes and immune modulation of pCR in HER2-Positive breast cancer patients treated with chemotherapy and HER2-Targeted agents in the CherLOB trial. *Ann Oncol.* 2016 Oct;27(10):1867–73.
238. Loibl S, Jackisch C, Schneeweiss A, Schmatloch S, Aktas B, Denkert C, et al. Dual HER2-blockade with pertuzumab and trastuzumab in HER2-positive early breast cancer: A subanalysis of data from the randomized phase III GepearSepto trial. *Ann Oncol.* 2017;28(3):497–504.
239. Denkert C, von Minckwitz G, Darb-Esfahani S, Ingold Heppner B, Klauschen F, Furlanetto J, et al. Abstract S1-09: Evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) as predictive and prognostic biomarker in different subtypes of breast cancer treated with neoadjuvant therapy - A metaanalysis of 3771 patients. *Cancer Res.* 2017 Feb 15;77(4_Supplement):S1-9.
240. Solinas C, Ceppi M, Lambertini M, Scartozzi M, Buisseret L, Garaud S, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes in patients with HER2-positive breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy plus trastuzumab, lapatinib or their combination: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Cancer Treat Rev.* 2017 Jun;57:8-15
241. Krop I, Ismaila N, Andre F, Bast RC, Barlow W, Collyar DE, et al. Use of biomarkers to guide decisions on adjuvant systemic therapy for women with early-stage invasive breast cancer: American society of clinical oncology clinical practice guideline focused update. *J Clin Oncol.* 2017 Aug;35(24):2838–47.
242. Burstein HJ, Curigliano G, Thürlimann B, Weber WP, Poortmans P, Regan MM, et al. Customizing local and systemic therapies for women with early breast cancer: the St. Gallen International Consensus Guidelines for treatment of early breast cancer 2021. *Ann Oncol.* 2021 Oct;32(10):1216–35.
243. Dieci MV, Mathieu MC, Guarneri V, Conte P, Delalogue S, Andre F, et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in two phase III randomized adjuvant breast cancer trials. *Ann Oncol.* 2015 Aug;26(8):1698–704.
244. Dieci M V, Criscitiello C, Goubar A, Viale G, Conte P, Guarneri V, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes on residual disease after primary chemotherapy for triple-negative breast cancer: A retrospective multicenter study. *Ann Oncol.* 2014;25(3):611–8.
245. Dimitrakakis C, Bondy C. Androgens and the breast. *Breast Cancer Res.* 2009;11(5):212.
246. Chang M-S. Tamoxifen resistance in breast cancer. *Biomol Ther (Seoul).* 2012 May;20(3):256-67.
247. Beaver JA, Park BH. The BOLERO-2 trial: The addition of everolimus to exemestane in the treatment of postmenopausal hormone receptor-positive advanced breast cancer. *Futur Oncol.* 2012 Jun;8(6):651–7.
248. Clarke R, Tyson JJ, Dixon JM. Endocrine resistance in breast cancer - An overview and update. *Mol Cell Endocrinol.* 2015 Dec;418:220–34.
249. Xu H, Yu S, Liu Q, Yuan X, Mani S, Pestell RG, et al. Recent advances of highly selective CDK4/6 inhibitors in breast cancer. Vol. 10, *Journal of Hematology and Oncology.* 2017. p. 97.
250. McNamara KM, Moore NL, Hickey TE, Sasano H, Tilley WD. Complexities of androgen receptor signalling in breast cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2014 Aug;21(4):T161-81.

251. Gonzalez LO, Corte MD, Vazquez J, Junquera S, Sanchez R, Alvarez AC, et al. Androgen receptor expression in breast cancer: Relationship with clinicopathological characteristics of the tumors, prognosis, and expression of metalloproteases and their inhibitors. *BMC Cancer*. 2008 May 28;8:149.
252. Collins LC, Cole KS, Marotti JD, Hu R, Schnitt SJ, Tamimi RM. Androgen receptor expression in breast cancer in relation to molecular phenotype: results from the Nurses'Health Study. *Mod Pathol*. 2011 Jul;24(7):924–31.
253. Park S, Koo JS, Kim MS, Park HS, Lee JS, Lee JS, et al. Androgen receptor expression is significantly associated with better outcomes in estrogen receptor-positive breast cancers. *Ann Oncol*. 2011 Aug;22(8):1755–62.
254. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, Sanders ME, Chakravarthy AB, Shyr Y, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest*. 2011 Jul;121(7):2750–67.
255. Qu Q, Mao Y, Fei XC, Shen KW. The impact of androgen receptor expression on breast cancer survival: A retrospective study and meta-analysis. *PLoS One*. 2013 Dec;8(12).
256. Kim Y, Jae E, Yoon M. Influence of androgen receptor expression on the survival outcomes in breast cancer: A meta-analysis. *J Breast Cancer*. 2015 Jun;18(2):134–42.
257. Wang C, Pan B, Zhu H, Zhou Y, Mao F, Lin Y, et al. Prognostic value of androgen receptor in triple negative breast cancer: A meta-analysis. *Oncotarget*. 2016;7(29):46482–91.
258. Maeda T, Nakanishi Y, Hirotsu Y, Fuchinoue F, Enomoto K, Sakurai K, et al. Immunohistochemical co-expression status of cytokeratin 5/6, androgen receptor, and p53 as prognostic factors of adjuvant chemotherapy for triple negative breast cancer. *Med Mol Morphol*. 2016 Mar;49(1):11–21.
259. Gasparini P, Fassan M, Cascione L, Guler G, Balci S, Irkkan C, et al. Androgen receptor status is a prognostic marker in non-basal triple negative breast cancers and determines novel therapeutic options. *PLoS One*. 2014 Feb 5;9(2):e88525.
260. Asano Y, Kashiwagi S, Goto W, Tanaka S, Morisaki T, Takashima T, et al. Expression and clinical significance of androgen receptor in triple-negative breast cancer. *Cancers (Basel)*. 2017 Jan 6;9(1):4.
261. Vera-Badillo FE, Templeton AJ, De Gouveia P, Diaz-Padilla I, Bedard PL, Al-Mubarak M, et al. Androgen receptor expression and outcomes in early breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*. 2014 Jan;106(1):djt319–djt319.
262. Rahim B, O'Regan R. AR signaling in breast cancer. *Cancers (Basel)*. 2017 Feb 24;9(3):21.
263. Masuda H, Baggerly KA, Wang Y, Zhang Y, Gonzalez-Angulo AM, Meric-Bernstam F, et al. Differential response to neoadjuvant chemotherapy among 7 triple-negative breast cancer molecular subtypes. *Clin Cancer Res*. 2013 Oct;19(19):5533–40.
264. Asano Y, Kashiwagi S, Onoda N, Kurata K, Morisaki T, Noda S, et al. Clinical verification of sensitivity to preoperative chemotherapy in cases of androgen receptor-expressing positive breast cancer. *Br J Cancer*. 2016 Jan;114(1):14–20.
265. Masiello D, Cheng S, Bublely GJ, Lu ML, Balk SP. Bicalutamide functions as an androgen receptor antagonist by assembly of a transcriptionally inactive receptor. *J Biol Chem*. 2002 Jul;277(29):26321–6.
266. Gucaalp A, Tolaney S, Isakoff SJ, Ingle JN, Liu MC, Carey LA, et al. Phase II trial of bicalutamide in patients with androgen receptor-positive, estrogen receptor-negative metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2013 Oct;19(19):5505–12.

267. Traina TA, Miller K, Yardley DA, O'Shaughnessy J, Cortes J, Awada A, et al. Results from a phase 2 study of enzalutamide (ENZA), an androgen receptor (AR) inhibitor, in advanced AR+ triple-negative breast cancer (TNBC). *J Clin Oncol*. 2015 May 20;33(15_suppl):1003.
268. Bonnefoi H, Grellety T, Tredan O, Saghatchian M, Dalenc F, Mailliez A, et al. A phase II trial of abiraterone acetate plus prednisone in patients with triple-negative androgen receptor positive locally advanced or metastatic breast cancer (UCBG 12-1). *Ann Oncol*. 2016 May;27(5):812–8.
269. Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: Links to genetic instability. Vol. 30, *Carcinogenesis*. Carcinogenesis. 2009 Jul;30(7):1073-81.
270. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature*. 2008 Jul 24;454(7203):436-44.
271. Mantovani A, Romero P, Palucka AK, Marincola FM. Tumour immunity: effector response to tumour and role of the microenvironment. *Lancet*. 2008 Mar 1;371(9614):771-83.
272. Koh CH, Bhoo-Pathy N, Ng KL, Jabir RS, Tan GH, See MH, et al. Utility of pre-treatment neutrophil-lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte ratio as prognostic factors in breast cancer. *Br J Cancer*. 2015 Jun;113(1):150–8.
273. Azab B, Shah N, Radbel J, Tan P, Bhatt V, Vonfrolio S, et al. Pretreatment neutrophil/lymphocyte ratio is superior to platelet/lymphocyte ratio as a predictor of long-term mortality in breast cancer patients. *Med Oncol*. 2013 Mar;30(1):432.
274. Azab B, Bhatt VR, Phookan J, Murukutla S, Kohn N, Terjanian T, et al. Usefulness of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in predicting short- and long-term mortality in breast cancer patients. *Ann Surg Oncol*. 2012 Jan;19(1):217–24.
275. Tomita M, Shimizu T, Ayabe T, Onitsuka T. Elevated preoperative inflammatory markers based on neutrophil-to-lymphocyte ratio and C-reactive protein predict poor survival in resected non-small cell lung cancer. *Anticancer Res*. 2012 Aug;32(8):3535–8.
276. Ishizuka M, Nagata H, Takagi K, Iwasaki Y, Kubota K. Combination of platelet count and neutrophil to lymphocyte ratio is a useful predictor of postoperative survival in patients with colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2013 Jul;109(2):401–7.
277. Asano Y, Kashiwagi S, Onoda N, Noda S, Kawajiri H, Takashima T, et al. Predictive Value of Neutrophil/Lymphocyte Ratio for Efficacy of Preoperative Chemotherapy in Triple-Negative Breast Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2016 Apr;23(4):1104–10.
278. Marín Hernández C, Piñero Madrona A, Gil Vázquez PJ, Galindo Fernández PJ, Ruiz Merino G, Alonso Romero JL, et al. Usefulness of lymphocyte-to-monocyte, neutrophil-to-monocyte and neutrophil-to-lymphocyte ratios as prognostic markers in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Clin Transl Oncol*. 2018 Apr;20(4):476–83.
279. Losada B, Guerra JA, Malón D, Jara C, Rodríguez L, Del Barco S. Pretreatment neutrophil/lymphocyte, platelet/lymphocyte, lymphocyte/monocyte, and neutrophil/monocyte ratios and outcome in elderly breast cancer patients. *Clin Transl Oncol*. 2019 Jul;21(7):855–63.
280. Chen J, Deng Q, Pan Y, He B, Ying H, Sun H, et al. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in breast cancer. *FEBS Open Bio*. 2015 May 12;5:502-7.
281. Wolff AC, Hammond MEH, Schwartz JN, Hagerty KL, Alfred 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. *Arch Pathol Lab Med*. 2007;131(1):18-43.

282. Cheang MCU, 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 May;101(10):736–50.
283. 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 Jun;17(6):1471–4.
284. Adenis A, Bonnetterre J, Bonnetterre ME, Pion JM, Vanlemmens L, Gladieff L, et al. Benefit of a high-dose epirubicin regimen in adjuvant chemotherapy for node-positive breast cancer patients with poor prognostic factors: 5-year follow-up results of French adjuvant study group 05 randomized trial. *J Clin Oncol.* 2001 Feb;19(3):602–11.
285. Piccart MJ, Di Leo A, Beauduin M, Vindevoghel A, Michel J, Focan C, et al. Phase III trial comparing two dose levels of epirubicin combined with cyclophosphamide with cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil in node-positive breast cancer. *J Clin Oncol.* 2001 Jun;19(12):3103–10.
286. Vogel CL, Wojtukiewicz MZ, Carroll RR, Tjulandin SA, Barajas-Figueroa LJ, Wiens BL, et al. First and subsequent cycle use of pegfilgrastim prevents febrile neutropenia in patients with breast cancer: A multicenter, double-blind, placebo-controlled phase III study. *J Clin Oncol.* 2005 Feb;23(6):1178–84.
287. Stanton SE, Adams S, Disis ML. Variation in the Incidence and Magnitude of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Breast Cancer Subtypes: A Systematic Review. *JAMA Oncol.* 2016;2(10):1354–60.
288. Stanton SE, Disis ML. Clinical significance of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer. *J Immunother Cancer.* 2016 Oct 18;4:59.
289. Dieci M V., Frassoldati A, Generali D, Bisagni G, Piacentini F, Cavanna L, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and molecular response after neoadjuvant therapy for HR+/HER2– breast cancer: results from two prospective trials. *Breast Cancer Res Treat.* 2017 Jun;163(2):295–302.
290. Montagna E, Vingiani A, Maisonneuve P, Canello G, Contaldo F, Pruneri G, et al. Unfavorable prognostic role of tumor-infiltrating lymphocytes in hormone-receptor positive, HER2 negative metastatic breast cancer treated with metronomic chemotherapy. *Breast.* 2017 Aug;34:83–8.
291. Dieci MV, Griguolo G, Miglietta F, Guarneri V. The immune system and hormone-receptor positive breast cancer: Is it really a dead end *Cancer Treat Rev.* 2016 May;46:9–19.
292. Ades F, Zardavas D, Bozovic-Spasojevic I, Pugliano L, Fumagalli D, De Azambuja E, et al. Luminal B breast cancer: Molecular characterization, clinical management, and future perspectives. *J Clin Oncol.* 2014 Sep 1;32(25):2794–803.
293. Hamy AS, Pierga JY, Sabaila A, Laas E, Bonsang-Kitzis H, Laurent C, et al. Stromal lymphocyte infiltration after neoadjuvant chemotherapy is associated with aggressive residual disease and lower disease-free survival in HER2-positive breast cancer. *Ann Oncol.* 2017 Sep;28(9):2233–40.
294. Gao Q, Patani N, Dunbier AK, Ghazoui Z, Zvelebil M, Martin LA, et al. Effect of aromatase inhibition on functional gene modules in estrogen receptor-positive breast cancer and their relationship with antiproliferative response. *Clin Cancer Res.* 2014 May;20(9):2485–94.
295. Dunbier AK, Ghazoui Z, Anderson H, Salter J, Nerurkar A, Osin P, et al. Molecular profiling of aromatase inhibitor-treated postmenopausal breast tumors identifies immune-related correlates of resistance. *Clin Cancer Res.* 2013 May;19(10):2775–86.
296. Andre F, Dieci MV., Dubsy P, Sotiriou C, Curigliano G, Denkert C, et al. Molecular pathways: involvement of immune pathways in the therapeutic response and outcome in breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2013 Jan;19(1):28–33.

297. Denkert C, von Minckwitz G, Darb-Esfahani S, Lederer B, Heppner BI, Weber KE, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy. *Lancet Oncol*. 2018 Jan;19(1):40–50.
298. Tanner M, Isola J, Wiklund T, Erikstein B, Kellokumpu-Lehtinen P, Malmström P, et al. Topoisomerase II α gene amplification predicts favorable treatment response to tailored and dose-escalated anthracycline-based adjuvant chemotherapy in HER-2/neu-amplified breast cancer: Scandinavian Breast Group trial 9401. *J Clin Oncol*. 2006 Jun;24(16):2428–36.
299. Munro AF, Cameron DA, Bartlett JMS. Targeting anthracyclines in early breast cancer: New candidate predictive biomarkers emerge. *Oncogene*. 2010 Sep 23;29(38):5231–40.
300. Leo A Di, Desmedt C, Bartlett JMS, Piette F, Ejlertsen B, Pritchard KI, et al. HER2 and TOP2A as predictive markers for anthracycline-containing chemotherapy regimens as adjuvant treatment of breast cancer: A meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol*. 2011 Nov;12(12):1134–42.
301. West NR, Milne K, Truong PT, Macpherson N, Nelson BH, Watson PH. Tumor-infiltrating lymphocytes predict response to anthracycline-based chemotherapy in estrogen receptor-negative breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2011 Dec;13(6):R126.
302. Andre F, Berrada N, Desmedt C. Implication of tumor microenvironment in the resistance to chemotherapy in breast cancer patients. *Curr Opin Oncol*. 2010 Nov;22(6):547–51
303. Emens LA. Chemoimmunotherapy. *Cancer J*. 2010 Jul-Aug;16(4):295–303.
304. Ladoire S, Arnould L, Apetoh L, Coudert B, Martin F, Chauffert B, et al. Pathologic Complete Response to Neoadjuvant Chemotherapy of Breast Carcinoma Is Associated with the Disappearance of Tumor-Infiltrating Foxp3 + Regulatory T Cells. *Clin Cancer Res*. 2008 Apr;14(8):2413–20.
305. Taieb J, Chaput N, Scharz N, Roux S, Novault S, Ménard C, et al. Chemoimmunotherapy of Tumors: Cyclophosphamide Synergizes with Exosome Based Vaccines. *J Immunol*. 2006 Mar;176(5):2722–9.
306. Yang L, Lu D, Lai Y, Shen M, Yu Q, Lei T, et al. Prognostic score-Based Stratification Analysis Reveals Universal Benefits of Radiotherapy on Lowering the Risk of Ipsilateral Breast Event for Ductal Carcinoma In Situ Patients with Different Risk Levels. *Ann Surg Oncol*. 2021;28(2):975–84.
307. Zitvogel L, Apetoh L, Ghiringhelli F, Kroemer G. Immunological aspects of cancer chemotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2008 Jan;8(1):59–73.
308. Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesniere A, Obeid M, Ortiz C, Criollo A, et al. Toll-like receptor 4-dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy. *Nat Med*. 2007 Sep;13(9):1050–9.
309. Springer NL, Iyengar NM, Bareja R, Verma A, Jochelson MS, Giri DD, et al. Obesity-Associated Extracellular Matrix Remodeling Promotes a Macrophage Phenotype Similar to Tumor-Associated Macrophages. *Am J Pathol*. 2019 Oct;189(10):2019–35.
310. Tiwari P, Blank A, Cui C, Schoenfelt KQ, Zhou G, Xu Y, et al. Metabolically activated adipose tissue macrophages link obesity to triple-negative breast cancer. *J Exp Med*. 2019 Jun;216(6):1345–58.
311. Wang Z, Aguilar EG, Luna JI, Dunai C, Khuat LT, Le CT, et al. Paradoxical effects of obesity on T cell function during tumor progression and PD-1 checkpoint blockade. *Nat Med*. 2019 Jan;25(1):141–51.
312. Heiden MGV, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the warburg effect: The metabolic requirements of cell proliferation. *Science*. 2009 May 22;324(5930):1029–33.

313. Giovannucci E, Harlan DM, Archer MC, Bergenstal RM, Gapstur SM, Habel LA, et al. Diabetes and cancer: A consensus report. *Diabetes Care*. 2010 Jul;33(7):1674-85.
314. Gallagher EJ, LeRoith D. The proliferating role of insulin and insulin-like growth factors in cancer. Vol. 21, *Trends in Endocrinology and Metabolism*. Trends Endocrinol Metab; 2010. p. 610-8.
315. Carmichael AR. Obesity as a risk factor for development and poor prognosis of breast cancer. *BJOG*. 2006 Oct;113(10):1160-6.
316. Bastarrachea J, Hortobagyi GN, Smith TL, Kau SWC, Buzdar AU. Obesity as an adverse prognostic factor for patients receiving adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Ann Intern Med*. 1994 Jan;120(1):18-25.
317. Berclaz G, Li S, Price KN, Coates AS, Castiglione-Gertsch M, Rudenstam CM, et al. Body mass index as a prognostic feature in operable breast cancer: The International Breast Cancer Study Group experience. *Ann Oncol*. 2004;15(6):875-84.
318. Chlebowski RT, Aiello E, McTiernan A. Weight Loss in Breast Cancer Patient Management. *J Clin Oncol*. 2002 Feb;20(4):1128-43.
319. Ryu SY, Kim CB, Nam CM, Park JK, Kim KS, Park J, et al. Is body mass index the prognostic factor in breast cancer?: A meta-analysis. *J Korean Med Sci*. 2001;16(5):610-4.
320. Vance V, Mourtzakis M, Mccargar L, Hanning R. Weight gain in breast cancer survivors: Prevalence, pattern and health consequences. *Obes Rev*. 2011 Apr;12(4):282-94.
321. Ewertz M, Jensen MB, Gunnarsdóttir KÁ, Højris I, Jakobsen EH, Nielsen D, et al. Effect of obesity on prognosis after early-stage breast cancer. *J Clin Oncol*. 2011 Jan;29(1):25-31.
322. Zumoff B, Dasgupta I. Relationship between body weight and the incidence of positive axillary nodes at mastectomy for breast cancer. *J Surg Oncol*. 1983;22(4):217-20.
323. Cui Y, Whiteman MK, Flaws JA, Langenberg P, Tkaczuk KH, Bush TL. Body mass and stage of breast cancer at diagnosis. *Int J Cancer*. 2002 Mar;98(2):279-83.
324. Goodwin PJ, Stambolic V. Obesity and insulin resistance in breast cancer - Chemoprevention strategies with a focus on metformin. *Breast*. 2011 Oct;20 Suppl 3:S31-5.
325. Kwan ML, Kushi LH, Weltzien E, Maring B, Kutner SE, Fulton RS, et al. Epidemiology of breast cancer subtypes in two prospective cohort studies of breast cancer survivors. *Breast Cancer Res*. 2009;11(3):R31.
326. Chen S, Chen CM, Zhou Y, Zhou RJ, Yu K Da, Shao ZM. Obesity or overweight is associated with worse pathological response to neoadjuvant chemotherapy among Chinese women with breast cancer. *PLoS One*. 2012;7(7):e41380.
327. Litton JK, Gonzalez-Angulo AM, Warneke CL, Buzdar AU, Kau SW, Bondy M, et al. Relationship between obesity and pathologic response to neoadjuvant chemotherapy among women with operable breast cancer. *J Clin Oncol*. 2008;26(25):4072-7.
328. Karatas F, Erdem GU, Sahin S, Aytakin A, Yuce D, Sever AR, et al. Obesity is an independent prognostic factor of decreased pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *Breast*. 2017 Apr;32:237-44.
329. Gurney H. How to calculate the dose of chemotherapy. *Br J Cancer*. 2002 Apr;86(8):1297-302.
330. Sawyer M, Ratain MJ. Body surface area as a determinant of pharmacokinetics and drug dosing. *Invest New Drugs*. 2001;19(2):171-7.

331. von Waldenfels G, Loibl S, Furlanetto J, Machleidt A, Lederer B, Denkert C, et al. Outcome after neoadjuvant chemotherapy in elderly breast cancer patients - A pooled analysis of individual patient data from eight prospectively randomized controlled trials. *Oncotarget*. 2018;9(20):15168–79.
332. Gennari R, Curigliano G, Rotmensz N, Robertson C, Colleoni M, Zurrada S, et al. Breast carcinoma in elderly women: Features of disease presentation, choice of local and systemic treatments compared with younger postmenopausal patients. *Cancer*. 2004 Sep;101(6):1302–10.
333. Wildiers H, Kunkler I, Biganzoli L, Fracheboud J, Vlastos G, Bernard-Marty C, et al. Management of breast cancer in elderly individuals: recommendations of the International Society of Geriatric Oncology. Vol. 8, *Lancet Oncology*. *Lancet Oncol*; 2007. p. 1101–15.
334. Crivellari D, Aapro M, Leonard R, Von Minckwitz G, Brain E, Goldhirsch A, et al. Breast cancer in the elderly. Vol. 25, *Journal of Clinical Oncology*. *J Clin Oncol*; 2007. p. 1882–90.
335. Louwman WJ, Vulto JCM, Verhoeven RHA, Nieuwenhuijzen GAP, Coebergh JWW, Voogd AC. Clinical epidemiology of breast cancer in the elderly. *Eur J Cancer*. 2007 Oct;43(15):2242–52.
336. Yaqoob P. Ageing alters the impact of nutrition on immune function. *Proc Nutr Soc*. 2017 Aug;76(3):347–351.
337. Takada K, Kashiwagi S, Asano Y, Goto W, Morisaki T, Shibutani M, et al. Differences in tumor-infiltrating lymphocyte density and prognostic factors for breast cancer by patient age. *World J Surg Oncol*. 2022 Feb 17;20(1):38.
338. Loi S, Drubay D, Adams S, Pruneri G, Francis PA, Lacroix-Triki M, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and prognosis: A pooled individual patient analysis of early-stage triple-negative breast cancers. *J Clin Oncol*. 2019;37(7):559–69.
339. Robinson-Rechavi M, Garcia HE, Laudet V. The nuclear receptor superfamily *J Cell Sci*. 2003 Feb 15;116(Pt 4):585–6.
340. Kuenen-Boumeester V, Van Der Kwast TH, Claassen CC, Look MP, Liem GS, Klijn JGM, et al. The clinical significance of androgen receptors in breast cancer and their relation to histological and cell biological parameters. *Eur J Cancer Part A*. 1996;32(9):1560–5.
341. Ogawa Y, Hai E, Matsumoto K, Ikeda K, Tokunaga S, Nagahara H, et al. Androgen receptor expression in breast cancer: Relationship with clinicopathological factors and biomarkers. *Int J Clin Oncol*. 2008 Oct;13(5):431–5.
342. He J, Peng R, Yuan Z, Wang S, Peng J, Lin G, et al. Prognostic value of androgen receptor expression in operable triple-negative breast cancer: A retrospective analysis based on a tissue microarray. *Med Oncol*. 2012 Jun;29(2):406–10.
343. Tang D, Xu S, Zhang Q, Zhao W. The expression and clinical significance of the androgen receptor and E-cadherin in triple-negative breast cancer. *Med Oncol*. 2012 Jun;29(2):526–33.
344. Qi JP, Yang YL, Zhu H, Wang J, Jia Y, Liu N, et al. Expression of the androgen receptor and its correlation with molecular subtypes in 980 Chinese breast cancer patients. *Breast Cancer (Auckl)*. 2012;6:1–8.
345. Hu R, Dawood S, Holmes MD, Collins LC, Schnitt SJ, Cole K, et al. Androgen receptor expression and breast cancer survival in postmenopausal women. *Clin Cancer Res*. 2011 Apr;17(7):1867–74.
346. Lundin KB, Henningson M, Hietala M, Ingvar C, Rose C, Jernström H. Androgen receptor genotypes predict response to endocrine treatment in breast cancer patients. *Br J Cancer*. 2011 Nov;105(11):1676–83.

347. Gonzaiez-Angulo AM, Stemke-Hale K, Palla SL, Carey M, Agarwal R, Meric-Berstam F, et al. Androgen receptor levels and association with PIK3CA mutations and prognosis in breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2009;15(7):2472–8.
348. Castellano I, Allia E, Accortanzo V, Vandone AM, Chiusa L, Arisio R, et al. Androgen receptor expression is a significant prognostic factor in estrogen receptor positive breast cancers. *Breast Cancer Res Treat*. 2010;124(3):607–17.
349. Park S, Park HS, Koo JS, Yang WI, Kim S II, Park BW. Higher expression of androgen receptor is a significant predictor for better endocrine-responsiveness in estrogen receptor-positive breast cancers. *Breast Cancer Res Treat*. 2012 May;133(1):311–20.
350. Agoff, MD SN, Swanson, MD PE, Linden, MD H, Hawes, PhD SE, Lawton, MD TJ. Androgen Receptor Expression in Estrogen Receptor-Negative Breast Cancer Immunohistochemical, Clinical, and Prognostic Associations. *Am J Clin Pathol*. 2003 Nov;120(5):725–31.
351. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Lee AHS, Robertson JF, Ellis IO. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer*. 2007 Jan;109(1):25–32.
352. Masili-Oku SM, Almeida BGL de, Bacchi CE, Filassi JR, Baracat EC, Carvalho FM. Lymphocyte-predominant triple-negative breast carcinomas in premenopausal patients: Lower expression of basal immunohistochemical markers. *Breast*. 2017 Feb;31:34–9.
353. Santonja A, Sánchez-Muñoz A, Lluch A, Chica-Parrado MR, Albanell J, Chacón JI, et al. Triple negative breast cancer subtypes and pathologic complete response rate to neoadjuvant chemotherapy. *Oncotarget*. 2018 May;9(41):26406–16.
354. Loibl S, Müller BM, Von Minckwitz G, Schwabe M, Roller M, Darb-Esfahani S, et al. Androgen receptor expression in primary breast cancer and its predictive and prognostic value in patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat*. 2011 Nov;130(2):477–87.
355. Astvatsaturyan K, Yue Y, Walts AE, Bose S. Androgen receptor positive triple negative breast cancer: Clinicopathologic, prognostic, and predictive features. *PLoS One*. 2018 Jun 8;13(6):e0197827.
356. Jongen L, Floris G, Wildiers H, Claessens F, Richard F, Laenen A, et al. Tumor characteristics and outcome by androgen receptor expression in triple-negative breast cancer patients treated with neo-adjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat*. 2019 Aug;176(3):699–708.
357. Park S, Koo J, Park HS, Kim JH, Choi SY, Lee JH, et al. Expression of androgen receptors in primary breast cancer. *Ann Oncol*. 2009 Nov;21(3):488–92.
358. Bozovic-Spasojevic I, Zardavas D, Brohee S, Ameye L, Fumagalli D, Ades F, et al. The prognostic role of androgen receptor in patients with early-stage breast cancer: A metaanalysis of clinical and gene expression data. *Clin Cancer Res*. 2017 Jun;23(11):2702–12.
359. Elebro K, Borgquist S, Simonsson M, Markkula A, Jirström K, Ingvar C, et al. Combined androgen and estrogen receptor status in breast cancer: Treatment prediction and prognosis in a population-based prospective cohort. *Clin Cancer Res*. 2015 Aug;21(16):3640–50.
360. Fioretti FM, Sita-Lumsden A, Bevan CL, Brooke GN. Revising the role of the androgen receptor in breast cancer. *J Mol Endocrinol*. 2014 Jun;52(3):R257-65.
361. Iimori N, Kashiwagi S, Asano Y, Goto W, Takada K, Takahashi K, et al. Clinical Significance of the Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Endocrine Therapy for Stage IV Breast Cancer. *In Vivo*. 2018 May-Jun;32(3):669-675.

362. Chae S, Kang KM, Kim HJ, Kang E, Park SY, Kim JH, et al. Neutrophil-lymphocyte ratio predicts response to chemotherapy in triple-negative breast cancer. *Curr Oncol*. 2018 Apr;25(2):e113–9.
363. Qian Y, Tao J, Li X, Chen H, Lu Q, Yang J, et al. Peripheral inflammation/immune indicators of chemosensitivity and prognosis in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Onco Targets Ther*. 2018 Mar;11:1423–32.
364. Proctor MJ, Morrison DS, Talwar D, Balmer SM, Fletcher CD, O'reilly DSJ, et al. A comparison of inflammation-based prognostic scores in patients with cancer. A Glasgow Inflammation Outcome Study. *Eur J Cancer*. 2011 Nov;47(17):2633–41.
365. Yao Y, Yuan D, Liu H, Gu X, Song Y. Pretreatment neutrophil to lymphocyte ratio is associated with response to therapy and prognosis of advanced non-small cell lung cancer patients treated with first-line platinum-based chemotherapy. *Cancer Immunol Immunother*. 2013 Mar;62(3):471–9.
366. Noh H, Eomm M, Han A. Usefulness of pretreatment neutrophil to lymphocyte ratio in predicting disease-specific survival in breast cancer patients. *J Breast Cancer*. 2013 Mar;16(1):55–9.
367. Templeton AJ, Rodríguez-Lescure, Ruíz A, Alba E, Calvo L, Ruíz-Borrego M, et al. Prognostic role for the derived neutrophil-to-lymphocyte ratio in early breast cancer: a GEICAM/9906 substudy. *Clin Transl Oncol*. 2018 Dec;20(12):1548–56.
368. Orditura M, Galizia G, Diana A, Saccone C, Cobellis L, Ventriglia J, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) for prediction of distant metastasis-free survival (DMFS) in early breast cancer: A propensity score-matched analysis. *ESMO Open*. 2016 Mar 7;1(2):e000038.
369. Wei B, Yao M, Xing C, Wang W, Yao J, Hong Y, et al. The neutrophil lymphocyte ratio is associated with breast cancer prognosis: An updated systematic review and meta-analysis. *Onco Targets Ther*. 2016 Sep 8;9:5567-75.
370. Ethier J-L, Desautels D, Templeton A, Shah PS, Amir E. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res*. 2017 Dec;19(1):2.
371. Pistelli M, De Lisa M, Ballatore Z, Caramanti M, Pagliacci A, Battelli N, et al. Pre-treatment neutrophil to lymphocyte ratio may be a useful tool in predicting survival in early triple negative breast cancer patients. *BMC Cancer*. 2015 Mar 28;15:195.
372. Jia W, Wu J, Jia H, Yang Y, Zhang X, Chen K, et al. The peripheral blood neutrophil-to-lymphocyte ratio is superior to the lymphocyte-to-monocyte ratio for predicting the long-term survival of triple-negative breast cancer patients *PLoS One*. 2015 Nov 18;10(11):e0143061.
373. Nakano K, Hosoda M, Yamamoto M, Yamashita H. Prognostic significance of pre-treatment neutrophil: lymphocyte ratio in Japanese patients with breast cancer. *Anticancer Res*. 2014 Jul;34(7):3819–24.
374. Vihervuori H, Autere TA, Repo H, Kurki S, Kallio L, Lintunen MM, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and CD8+ T cells predict survival of triple-negative breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2019 Dec;145(12):3105–14.
375. Lee J, Kim DM, Lee A. Prognostic role and clinical association of tumor-infiltrating lymphocyte, programmed death ligand-1 expression with neutrophil-lymphocyte ratio in locally advanced triple-negative breast cancer. *Cancer Res Treat*. 2019;51(2):649–63.
376. Biswas T, Efrid JT, Prasad S, Jindal C, Walker PR. The survival benefit of neoadjuvant chemotherapy and pCR among patients with advanced stage triple negative breast cancer. *Oncotarget*. 2017;8(68):112712–9.

377. Chen VE, Gillespie EF, Zakeri K, Murphy JD, Yashar CM, Lu S, et al. Pathologic response after neoadjuvant chemotherapy predicts locoregional control in patients with triple negative breast cancer. *Adv Radiat Oncol*. 2017 Apr;2(2):105–9.
378. Gamucci T, Pizzuti L, Sperduti I, Mentuccia L, Vaccaro A, Moscetti L, et al. Neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer: A multicentric retrospective observational study in real-life setting. *J Cell Physiol*. 2018 Mar;233(3):2313–23.
379. Prowell TM, Pazdur R. Pathological Complete Response and Accelerated Drug Approval in Early Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2012 Jun;366(26):2438–41.
380. Drugs@FDA [database on the Internet]. Silver Spring (MD): Food & Drug Administration, FDA; 2013. [cited 2022 June 14]. Medical review(s). Application number:125409\51; 104 p. Available from: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2013/125409Orig1s051MedR.pdf
381. Drugs@FDA [database on the Internet]. Silver Spring (MD): Food & Drug Administration. FDA; 2013. [cited 2022 June 14]. Highlights of prescribing information 24 p. Available from: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/125409s051lbl.pdf
382. Provenzano E, Bossuyt V, Viale G, Cameron D, Badve S, Denkert C, et al. Standardization of pathologic evaluation and reporting of postneoadjuvant specimens in clinical trials of breast cancer: Recommendations from an international working group. Vol. 28, *Modern Pathology*. *Mod Pathol*. 2015 Sep;28(9):1185-201.
383. Bossuyt V, Provenzano E, Symmans WF, Boughey JC, Coles C, Curigliano G, et al. Recommendations for standardized pathological characterization of residual disease for neoadjuvant clinical trials of breast cancer by the BIG-NABCG collaboration. *Ann Oncol*. 2015 Jul;26(7):1280–91.
384. Burgués O, López-García M, Pérez-Mías B, Santiago P, Vieites B, García JF, et al. The ever-evolving role of pathologists in the management of breast cancer with neoadjuvant treatment: recommendations based on the Spanish clinical experience. *Clin Transl Oncol*. 2018 Mar;20(3):382–91.
385. Loibl S, Jackisch C, Lederer B, Untch M, Paepke S, Kümmel S, et al. Outcome after neoadjuvant chemotherapy in young breast cancer patients: a pooled analysis of individual patient data from eight prospectively randomized controlled trials. *Breast Cancer Res Treat*. 2015 Jul;152(2):377–87.
386. Chou HH, Kuo WL, Yu CC, Tsai HP, Shen SC, Chu CH, Yu MC, Lo YF, Dabora MA, Chang HK, Lin YC, Ueng SH, Chen SC. Impact of age on pathological complete response and locoregional recurrence in locally advanced breast cancer after neoadjuvant chemotherapy. *Biomed J*. 2019 Feb;42(1):66-74.
387. Li CI, Anderson BO, Daling JR, Moe RE. Trends in incidence rates of invasive lobular and ductal breast carcinoma. *JAMA*. 2003 Mar;289(11):1421–4.
388. Cocquyt VF, Blondeel PN, Depyperet HT, Praet MM, Schelfhout VR, Silva OE, et al. Different responses to preoperative chemotherapy for invasive lobular and invasive ductal breast carcinoma. *Eur J Surg Oncol*. 2003;29(4):361–7.
389. Tubiana-Hulin M, Stevens D, Lasry S, Guinebretière JM, Bouita L, Cohen-Solal C, et al. Response to neoadjuvant chemotherapy in lobular and ductal breast carcinomas: A retrospective study on 860 patients from one institution. *Ann Oncol*. 2006 Aug;17(8):1228–33.
390. Delpech Y, Coutant C, Hsu L, Barranger E, Iwamoto T, Barcenas CH, et al. Clinical benefit from neoadjuvant chemotherapy in oestrogen receptor-positive invasive ductal and lobular carcinomas. *Br J Cancer*. 2013 Feb;108(2):285–91.

391. Thomas M, Kelly ED, Abraham J, Kruse M. Invasive lobular breast cancer: A review of pathogenesis, diagnosis, management, and future directions of early stage disease. Vol. 46, *Seminars in Oncology Semin Oncol*. 2019 Apr;46(2):121-132.
392. Wu S gang, He Z yu, Zhou J, Sun J yuan, Li F yan, Lin Q, et al. Serum levels of CEA and CA15-3 in different molecular subtypes and prognostic value in Chinese breast cancer. *Breast*. 2014 Feb;23(1):88-93.
393. Shao Y, Sun X, He Y, Liu C, Liu H. Elevated levels of serum tumor markers CEA and CA15-3 are prognostic parameters for different molecular subtypes of breast cancer. *PLoS One*. 2015 Jul 24;10(7):e0133830.
394. Gonssaud B, Goussot V, Berriolo-Riedinger A, Saïtta-Aribau E, Coutant C, Cochet A, et al. Intérêt clinique du CA 15-3 pour la détection des métastases des cancers du sein nouvellement diagnostiqués. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2017 Jul;75(4):421-9.
395. Marić P, Ozretić P, Levanat S, Orešković S, Antunac K, Beketić-Orešković L. Tumor markers in breast cancer--evaluation of their clinical usefulness. *Coll Antropol*. 2011 Mar;35(1):241-7.
396. Elfagieh M, Abdalla F, Gliwan A, Boder J, Nichols W, Buhmeida A. Serum tumour markers as a diagnostic and prognostic tool in Libyan breast cancer. *Tumour Biol*. 2012;33(6):2371-7.
397. Li X, Dai D, Chen B, Tang H, Xie X, Wei W. Clinicopathological and Prognostic Significance of Cancer Antigen 15-3 and Carcinoembryonic Antigen in Breast Cancer: A Meta-Analysis including 12,993 Patients. *Dis Markers*. 2018;2018:1-15.
398. Park BW, Oh JW, Kim JH, Park SH, Kim KS, Kim JH, et al. Preoperative CA 15-3 and CEA serum levels as predictor for breast cancer outcomes. *Ann Oncol*. 2008 Apr;19(4):675-81.
399. Samy N, Ragab HM, El Maksoud NA, Shaalan M. Prognostic significance of serum Her2/neu, BCL2, CA15-3 and CEA in breast cancer patients: A short follow-up. *Cancer Biomarkers*. 2010;6(2):63-72.
400. Lee JS, Park S, Park JM, Cho JH, Kim SI, Park BW. Elevated levels of preoperative CA 15-3 and CEA serum levels have independently poor prognostic significance in breast cancer. *Ann Oncol*. 2013 May;24(5):1225-31.
401. Imamura M, Morimoto T, Nomura T, Michishita S, Nishimukai A, Higuchi T, et al. Independent prognostic impact of preoperative serum carcinoembryonic antigen and cancer antigen 15-3 levels for early breast cancer subtypes. *World J Surg Oncol*. 2018 Feb 12;16(1):26.
402. Al-Azawi D, Kelly G, Myers E, McDermott EW, Hill ADK, Duffy MJ, et al. CA 15-3 is predictive of response and disease recurrence following treatment in locally advanced breast cancer. *BMC Cancer*. 2006 Sep 5;6:220.
403. Xuan L, Danian D, Bo Ch, Hailin T, Xiaoming X Weidong W, et al. Clinicopathological and Prognostic Significance of Cancer Antigen 15-3 and Carcinoembryonic Antigen in Breast Cancer: A Meta- Analysis including 12,993 patients. *Dis Markers*. 2018 May 2; 2018: 9863092.
404. 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 Nov 20;25(33):5287-312.
405. Lyman GH, Giuliano AE, Somerfield MR, Benson AB, Bodurka DC, Burstein HJ, et al. American Society of Clinical Oncology guideline recommendations for sentinel lymph node biopsy in early-stage breast cancer. *J Clin Oncol*. 2005 Oct 20;23(30):7703-20.
406. Giuliano AE, Ballman KV, McCall L, Beitsch PD, Brennan MB, Kelemen PR, Ollila DW, Hansen NM, Whitworth PW, Blumencranz PW, Leitch AM, Saha S, Hunt KK, Morrow M. Effect of Axillary Dissection vs No Axillary Dissection on 10-Year Overall Survival Among Women With Invasive Breast Cancer and

- Sentinel Node Metastasis: The ACOSOG Z0011 (Alliance) Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2017 Sep 12;318(10):918-926.
407. Lyman GH, Somerfield MR, Bosserman LD, Perkins CL, Weaver DL, Giuliano AE. Sentinel lymph node biopsy for patients with early-stage breast cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*. 2017 Feb;35(5):561-4.
408. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) Breast cancer. Version 2. 2021.
409. Boughey JC, Ballman K V., Le-Petross HT, McCall LM, Mittendorf EA, Ahrendt GM, et al. Identification and Resection of Clipped Node Decreases the False-negative Rate of Sentinel Lymph Node Surgery in Patients Presenting With Node-positive Breast Cancer (T0-T4, N1-N2) Who Receive Neoadjuvant Chemotherapy: Results From ACOSOG Z1071 (Alliance). *Ann Surg*. 2016 Apr;263(4):802-7.
410. Lim GH, Teo SY, Gudi M, Ng RP, Pang J, Tan YS, et al. Initial results of a novel technique of clipped node localization in breast cancer patients postneoadjuvant chemotherapy: Skin Mark clipped Axillary nodes Removal Technique (SMART trial). *Cancer Med*. 2020 Mar;9(6):1978-85.
411. Krag DN, Anderson SJ, Julian TB, Brown AM, Harlow SP, Costantino JP, et al. Sentinel-lymph-node resection compared with conventional axillary-lymph-node dissection in clinically node-negative patients with breast cancer: Overall survival findings from the NSABP B-32 randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2010 Oct;11(10):927-33.
412. Mamounas EP, Brown A, Anderson S, Smith R, Julian T, Miller B, et al. Sentinel node biopsy after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: Results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project protocol B-27. *J Clin Oncol*. 2005 Apr;23(12):2694-702.
413. Kuehn T, Bauerfeind I, Fehm T, Fleige B, Hausschild M, Helms G, et al. Sentinel-lymph-node biopsy in patients with breast cancer before and after neoadjuvant chemotherapy (SENTINA): A prospective, multicentre cohort study. *Lancet Oncol*. 2013 Jun;14(7):609-18.
414. Boughey JC, Suman VJ, Mittendorf EA, Ahrendt GM, Wilke LG, Taback B, et al. Sentinel lymph node surgery after neoadjuvant chemotherapy in patients with node-positive breast cancer: The ACOSOG Z1071 (alliance) clinical trial. *JAMA*. 2013 Oct 9;310(14):1455-61.
415. Boileau JF, Poirier B, Basik M, Holloway CMB, Gaboury L, Sideris L, et al. Sentinel node biopsy after neoadjuvant chemotherapy in biopsy-proven node-positive breast cancer: The SN FNAC study. *J Clin Oncol*. 2015 Jan;33(3):258-63.
416. Yan M, Abdi MA, Falkson C. Axillary Management in Breast Cancer Patients: A Comprehensive Review of the Key Trials. *Clin Breast Cancer*. 2018 Dec;18(6):e1251-e1259.
417. Tee SR, Devane LA, Evoy D, Rothwell J, Geraghty J, Prichard RS, et al. Meta-analysis of sentinel lymph node biopsy after neoadjuvant chemotherapy in patients with initial biopsy-proven node-positive breast cancer. *Br J Surg*. 2018 Nov;105(12):1541-1552.
418. Caudle AS, Yang WT, Krishnamurthy S, Mittendorf EA, Black DM, Gilcrease MZ, et al. Improved axillary evaluation following neoadjuvant therapy for patients with node-positive breast cancer using selective evaluation of clipped nodes: Implementation of targeted axillary dissection. *J Clin Oncol*. 2016 Apr;34(10):1072-8.
419. Siso C, de Torres J, Esgueva-Colmenarejo A, Espinosa-Bravo M, Rus N, Cordoba O, et al. Intraoperative Ultrasound-Guided Excision of Axillary Clip in Patients with Node-Positive Breast Cancer Treated with Neoadjuvant Therapy (ILINA Trial): A New Tool to Guide the Excision of the Clipped Node After Neoadjuvant Treatment. *Ann Surg Oncol*. 2018 Mar;25(3):784-91.

420. Kahler-Ribeiro-Fontana S, Pagan E, Magnoni F, Vicini E, Morigi C, Corso G, et al. Long-term standard sentinel node biopsy after neoadjuvant treatment in breast cancer: a single institution ten-year follow-up. *Eur J Surg Oncol*. 2021 Apr;47(4):804–12.
421. Clinicaltrials.gov. Comparison of Axillary Lymph Node Dissection With Axillary Radiation for Patients With Node-Positive Breast Cancer Treated With Chemotherapy (Alliance A011202)[Internet]. [cited 2022 June 14]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01901094>.
422. Henke G, Knauer M, Ribi K, Hayoz S, Gérard MA, Ruhstaller T, et al. Tailored axillary surgery with or without axillary lymph node dissection followed by radiotherapy in patients with clinically node-positive breast cancer (TAXIS): Study protocol for a multicenter, randomized phase-III trial. *Trials*. 2018 Dec 4;19(1):667.
423. Donker M, van Tienhoven G, Straver ME, Meijnen P, van de Velde CJH, Mansel RE, et al. Radiotherapy or surgery of the axilla after a positive sentinel node in breast cancer (EORTC 10981-22023 AMAROS): A randomised, multicentre, open-label, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet Oncol*. 2014 Nov;15(12):1303–10.
424. Riogi B, Sripadam R, Barker D, Harris O, Innes H, Chagla L. Management of the axilla following neoadjuvant chemotherapy for breast cancer- A change in practice. *Surgeon*. 2021 Feb;19(1):1–7.
425. Savas P, Salgado R, Denkert C, Sotiriou C, Darcy PK, Smyth MJ, et al. Clinical relevance of host immunity in breast cancer: From TILs to the clinic. *Nat Rev Clin Oncol*. 2016 Apr;13(4):228–41.
426. Cimino-Mathews A, Ye X, Meeker A, Argani P, Emens LA. Metastatic triple negative breast cancers at first relapse have fewer tumor-infiltrating lymphocytes than their matched primary breast tumors: A pilot study. *Hum Pathol*. 2013 Oct;44(10):2055–63.

ANNEXOS

10- ANNEXOS

10.1- AJCC 8^a edició

Definició del tumor primari (T)

Categoria	Criteri
Tx	No es pot avaluar el tumor primari.
T0	No evidència de tumor primari.
Tix (CD in situ)*	Carcinoma ductal in situ.
Tis (Paget)	Malaltia de Paget del mugró no associada amb carcinoma invasiu i/o carcinoma <i>in situ</i> en el parènquima subjacent. Els carcinomes de la mama associats a la malaltia de Paget es categoritzen en base al diàmetre i les característiques del parènquima, encara que la presència de la malaltia de Paget s'ha d'observar.
T1	Tumor ≤ 20 mm de diàmetre màxim.
T1mi	Tumor ≤ 1 mm diàmetre màxim.
T1a	Tumor >1 mm però ≤5 mm de diàmetre màxim.
T1b	Tumor > 5 mm però ≤10 mm de diàmetre màxim.
T1c	Tumor >10 mm però ≤20 mm de diàmetre màxim.
T2	Tumor >20 mm però ≤50 mm diàmetre màxim.
T3	Tumor >50 mm de diàmetre màxim.
T4	Tumor de qualsevol diàmetre amb afectació de la paret costal i/o pell (ulceració o nòduls macroscòpics); invasió de la dermis no es classifica de T4.
T4a	Extensió a la paret costal; invasió o adherència al múscul pectoral en absència d'afectació de paret costal no és T4.
T4b	Ulceració i/o nòduls satèl·lits macroscòpics ipsilaterals i/o edema (inclou pell de taronja) o de la pell que no compleix criteris per carcinoma inflamatori.
T4c	T4a i T4b.
T4d	Carcinoma inflamatori

*Carcinoma lobel·lar *in situ* és una entitat benigna i s'ha retirat de la classificació TNM de la AJCC 8a edició.

Definició dels ganglis limfàtics regionals clínics (cN)

Categoria	Criteri
cNx	Ganglis limfàtics regionals no poden ser avaluats (pe. Extirpació prèvia).
cN0	No evidència de metàstasis en els ganglis limfàtics regionals (per imatge o exploració clínica).
cN1	Metàstasis mòbils en ganglis axil·lars ipsilaterals nivells I i II.
cN1mi	Micrometàstasi (aproximadament 200 cèl·lules, major de 0.2 mm però menor de 2.0 mm).
cN2	Metàstasis en ganglis axil·lars ipsilaterals nivell I, II que estan fixats; o a la cadena mamària interna ipsilateral en absència d'afectació axil·lar.
cN2a	Metàstasi en ganglis axil·lars ipsilaterals nivell I, II que estan fixats entre ells o a altres estructures.
cN2b	Metàstasis només a la cadena mamària interna ipsilateral en absència d'afectació axil·lar.
cN3	Metàstasis a regió infraclavicular ipsilateral (nivell III axil·lar) amb o sense afectació de nivell I i II; o afectació de la cadena mamària interna ipsilateral amb nivell I, II axil·lar; o metàstasis a regió supraclavicular ipsilateral amb o sense afectació axil·lar o de la cadena mamària interna.
cN3a	Metàstasis a regió ganglionar infraclavicular ipsilateral.
cN3b	Metàstasis a cadena mamària interna ipsilateral i afectació axil·lar.
cN3c	Metàstasi a regió supraclavicular ipsilateral.

Definició dels ganglis regionals patològics (pN).

Categoria	Criteri
pNx	Ganglis limfàtics regionals no avaluable (pe. ressecat prèviament).
pN0	Sense afectació ganglionar regiona o només ITCs.
pN0(i+)	Només ITCs (grups cel·lulars malignes no majors de 0.2 mm) a ganglis axil·lars regionals.
pN0(mol+)	Troballes moleculars positives per reacció en cadena de la polimerasa per transcriptasa inversa (RT-PCR); no detecció de ITCs.
pN1	Micrometàstasis; o afectació ganglionar axil·lar de 1-3 ganglis; i/o no afectació de la cadena mamària interna amb micro o maro metàstasis per biòpsia del gangli sentinella.
pN1mi	Micrometàstasis (aproximadament 200 cèl·lules, la més gran de 0.2 mm, però no més de 2.0 mm).
pN1a	Metàstasis en 1-3 ganglis axil·lars, al menys una metàstasi major de 2.0 mm.
pN1b	Metàstasis a la cadena mamària interna ipsilateral i gangli sentinella, excloent ITCs.
pN1c	pN1a i pN1b combinat.
pN2	Metàstasis en 4-9 ganglis axil·lars; o afectació de la cadena mamària interna ipsilateral clínica en absència d'afectació ganglionar axil·lar.
pN2a	Metàstasis en 4-9 ganglis axil·lars (al menys un major de 2.0 mm).
pN2b	Metàstasis a la cadena mamària interna ipsilateral clínica amb o sense confirmació microscòpica, sense afectació axil·lar patològica.
pN3	Metàstasis en 10 ó més ganglis axil·lars; o a nivell infraclavicular (nivell III axil·lar); o afectació de la cadena mamària interna per imatge i presència de metàstasis a nivells axil·lars I, II; o més de 3 ganglis axil·lars i micro o macrometàstasis per biòpsia del gangli sentinella i clínicament no afectació de la cadena mamària ipsilateral; o afectació ganglionar supraclavicular ipsilateral.
pN3a	Metàstasis en més de 10 ganglis axil·lars; o metàstasis a la regió infraclavicular (nivell axil·lar III).
pN3b	pN1a o pN2a en presència de cN2b (afectació mamària interna per imatge); o pN2a en presència de pN1b.
pN3c	Metàstasis a regió ganglionar supraclavicular ipsilateral.

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

ESTADIATGE CLÍNIC PRONÒSTIC:

TNM	GRAU	HER2	RE	RP	ESTADI		
TisNOM0	Qualsevol	Qualsevol	Qualsevol	Qualsevol	0		
T1*NOM0 T0NimiM0 T1*N1miM0	G1	Positiu	Positiu	Positiu	IA		
			Negatiu	Negatiu			
		Negatiu	Positiu	Positiu		IB	
			Negatiu	Negatiu			
		G2	Positiu	Positiu	Positiu	IA	
				Negatiu	Negatiu		
	Negatiu		Positiu	Positiu	IB		
			Negatiu	Negatiu			
	G3		Positiu	Positiu	Positiu	IA	
				Negatiu	Negatiu		
		Negatiu	Positiu	Positiu	IB		
			Negatiu	Negatiu			
		T0N1**M0 T1*N1**M0 T2NOM0	G1	Positiu	Positiu	Positiu	IB
					Negatiu	Negatiu	IIA
	Negatiu			Positiu	Positiu	IB	
				Negatiu	Negatiu	IIA	
	G2			Positiu	Positiu	Positiu	IB
					Negatiu	Negatiu	IIA
			Negatiu	Positiu	Positiu	IB	
				Negatiu	Negatiu	IIA	
			G3	Positiu	Positiu	Positiu	IB
					Negatiu	Negatiu	IIA
	Negatiu			Positiu	Positiu	IB	
				Negatiu	Negatiu	IIB	

*T1 inclou T1mic. **N1 no inclou N1mic.

TNM	GRAU	HER2	RE	RP	ESTADI		
T2N1**M0 T3N0M0	G1	Positiu	Positiu	Positiu	IB		
			Negatiu	Negatiu	IIA		
		Negatiu	Positiu	Positiu	Positiu	IIB	
				Negatiu	Negatiu	IIA	
			Negatiu	Positiu	Positiu	IIB	
				Negatiu	Negatiu	IIB	
	G2	Positiu	Positiu	Positiu	IB		
			Negatiu	Negatiu	IIA		
			Negatiu	Positiu	IIB		
		Negatiu	Positiu	Positiu	Negatiu	IIB	
				Negatiu	Positiu	IIB	
			Negatiu	Positiu	Negatiu	IIIB	
				Negatiu	Negatiu	IIIB	
			G3	Positiu	Positiu	Positiu	IB
					Negatiu	Negatiu	IIB
Negatiu	Positiu	IIB					
Negatiu	Positiu	Positiu		Negatiu	IIIA		
		Negatiu		Positiu	IIIB		
	Negatiu	Negatiu		Negatiu	IIIB		

T0N2M0 T1*N2M0 T2N2M0 T3N1***M0 T3N2M0	G1	Positiu	Positiu	Positiu	IIA		
			Negatiu	Negatiu	IIIA		
		Negatiu	Positiu	Positiu	Positiu	IIB	
				Negatiu	Negatiu	IIIA	
			Negatiu	Positiu	Positiu	IIIB	
				Negatiu	Negatiu	IIIB	
	G2	Positiu	Positiu	Positiu	IIB		
			Negatiu	Negatiu	IIIA		
			Negatiu	Positiu	IIIA		
		Negatiu	Positiu	Positiu	Positiu	IIB	
				Negatiu	Negatiu	IIIA	
			Negatiu	Positiu	Positiu	IIIB	
				Negatiu	Negatiu	IIIB	
			G3	Positiu	Positiu	Positiu	IIB
					Negatiu	Negatiu	IIIA
Negatiu	Positiu	IIIA					
Negatiu	Positiu	Positiu		Positiu	IIIB		
		Negatiu		Negatiu	IIIB		
	Negatiu	Negatiu		Negatiu	IIIC		

*T1 inclou T1mic. **N1 no inclou N1mic. N1*** inclou N1 mic.

TNM	GRAU	HER2	RE	RP	ESTADI		
T4N0M0 T4N1***M0 T4N2M0 Qualsevol TN3M0	G1	Positiu	Positiu	Positiu	IIIA		
				Negatiu	IIIB		
		Negatiu	Positiu	Positiu			
			Negatiu	Negatiu			
		G2	Positiu	Positiu		Positiu	IIIA
					Negatiu	IIIB	
	Negatiu		Positiu	Positiu			
			Negatiu	Negatiu			
	G3		Positiu	Positiu	Positiu		IIIB
					Negatiu		
		Negatiu	Positiu	Positiu			
			Negatiu	Negatiu			
		Qualsevol T, N, M1	Qualsevol	Qualsevol	Qualsevol	Qualsevol	IV

N1*** inclou N1 mic.

ESTADIATGE PATOLÒGIC PRONÒSTIC:

TisNOM0	Qualsevol	Qualsevol	Qualsevol	Qualsevol	0	
T1N0M0 T0N1miM0 T1N1miM0	G1	Positiu	Positiu	Positiu	IA	
				Negatiu	Negatiu	
		Negatiu	Positiu	Positiu	IA	
			Negatiu	Negatiu	IA	
		G2	Positiu	Positiu	Positiu	IA
					Negatiu	IA
	Negatiu		Positiu	Positiu	IA	
			Negatiu	Negatiu	IA	
	G3		Positiu	Positiu	Positiu	IA
					Negatiu	IA
		Negatiu	Positiu	Positiu	IA	
			Negatiu	Negatiu	IA	
					IB	

TNM	GRAU	HER2	RE	RP	ESTADI	
T0N1M0 T1N1M0 T2N0M0	G1	Positiu	Positiu	Positiu	IA	
				Negatiu	IB	
			Negatiu	Positiu	IB	
			Negatiu	Negatiu	IIA	
		Negatiu	Positiu	Positiu	IA	
				Negatiu	IB	
	Negatiu		Positiu	IB		
			Negatiu	Negatiu	IIA	
	G2		Positiu	Positiu	Positiu	IA
					Negatiu	IB
		Negatiu		Positiu	IIA	
		Negatiu	Positiu	Positiu	IA	
				Negatiu	IIA	
			Negatiu	Positiu	IIA	
			Negatiu	IIA		
	G3		Positiu	Positiu	Positiu	IA
					Negatiu	IIA
		Negatiu		Positiu	IIA	
		Negatiu	Positiu	Positiu	IB	
				Negatiu	IIA	
			Negatiu	Positiu	IIA	
			Negatiu	IIA		

T2N1M0 T3N0M0	G1	Positiu	Positiu	Positiu	IA	
				Negatiu	IIB	
			Negatiu	Positiu	IIB	
			Negatiu	Negatiu	IIB	
		Negatiu	Positiu	Positiu	IA	
				Negatiu	IIB	
	Negatiu		Positiu	IIB		
			Negatiu	IIB		
	G2		Positiu	Positiu	Positiu	IB
					Negatiu	IIB
		Negatiu		Positiu	IIB	
		Negatiu	Positiu	Positiu	IB	
				Negatiu	IIB	
			Negatiu	Positiu	IIB	
			Negatiu	IIB		
	G3		Positiu	Positiu	Positiu	IB
					Negatiu	IIB
		Negatiu		Positiu	IIB	
		Negatiu	Positiu	Positiu	IIA	
				Negatiu	IIB	
			Negatiu	Positiu	IIB	
			Negatiu	IIB		
			Positiu	IIIA		
			Negatiu	IIIA		

TNM	GRAU	HER2	RE	RP	ESTADI
T0N2M0 T1N2M0 T2N2M0 T3N1M0 T3N2M0	G1	Positiu	Positiu	Positiu	IB
				Negatiu	IIIA
			Negatiu	Positiu	IIIA
		Negatiu	Positiu	Positiu	IB
				Negatiu	IIIA
			Negatiu	Positiu	IIIA
	G2	Positiu	Positiu	Positiu	IB
				Negatiu	IIIA
			Negatiu	Positiu	IIIA
		Negatiu	Positiu	Positiu	IB
				Negatiu	IIIA
			Negatiu	Positiu	IIIA
	G3	Positiu	Positiu	Positiu	IIB
				Negatiu	IIIA
			Negatiu	Positiu	IIIA
		Negatiu	Positiu	Positiu	IIB
				Negatiu	IIIA
			Negatiu	Positiu	IIIA
T4N0M0 T4N1M0 T4N2M0 Qualsevol TN3M0	G1	Positiu	Positiu	Positiu	IIIA
				Negatiu	IIIB
			Negatiu	Positiu	IIIB
		Negatiu	Positiu	Positiu	IIIA
				Negatiu	IIIB
			Negatiu	Positiu	IIIB
	G2	Positiu	Positiu	Positiu	IIIA
				Negatiu	IIIB
			Negatiu	Positiu	IIIB
		Negatiu	Positiu	Positiu	IIIA
				Negatiu	IIIB
			Negatiu	Positiu	IIIB
	G3	Positiu	Positiu	Positiu	IIIB
				Negatiu	IIIB
			Negatiu	Positiu	IIIB
		Negatiu	Positiu	Positiu	IIIC
				Negatiu	IIIC
			Negatiu	Positiu	IIIC
Qualsevol T Qualsevol N M1	Qualsevol	Qualsevol	Qualsevol	Qualsevol	IV

10.2- Informe del Comitè d'Investigació Clínica



Código CEIC 14/16

INFORME DEL COMITÈ ÈTIC D'INVESTIGACIÓ CLÍNICA

MATEU SERRA PRAT, Secretari del Comitè Ètic d'Investigació Clínica de l'Hospital de Mataró, Consorci Sanitari del Maresme

CERTIFICA

Que aquest Comitè ha avaluat la proposta presentada per la **Dra. M. Velasco – Servei d'Oncologia - CSdM** per tal que sigui realitzat a l'Hospital de Mataró el projecte de recerca titulat: **Evolució de les pacients amb càncer de mama localment avançat amb tractament neoadjuvant a l'àrea del Maresme en funció del subtipus immunohistoquímic: 2002 – 2012** (Protocol versió 1 de data 19-02-16)

amb els medicaments: —

i considera que:

Es compleixen els requisits necessaris d'idoneïtat del protocol en relació amb els objectius de l'estudi i estan justificats els riscos i molèsties previsibles per al subjecte.

La capacitat de l'investigador i els mitjans disponibles són apropiats per a dur a terme l'estudi.

I que aquest Comitè accepta que aquest projecte de recerca sigui realitzat a Hospital de Mataró per la **Dra. M. Velasco**, com a Investigadora Principal.

Ho firmo a Mataró a 24 de febrer de 2016

Firmat:

Mateu Serra Prat
Secretari CEIC del CSdM