



**UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DEPARTAMENTO DE CITOLOGÍA E HISTOLOGÍA NORMAL Y PATOLÓGICA**

**CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS E INMUNOHISTOQUÍMICAS  
DE LOS CARCINOMAS DE MAMA DIAGNOSTICADOS EN PROGRAMAS  
DE CRIBADO DE CÁNCER DE MAMA**

**M. ÁNGELES LÓPEZ GARCÍA**

**SEVILLA, 2018**

**UNIVERSIDAD DE SEVILLA**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE CITOLOGÍA E HISTOLOGÍA NORMAL Y PATOLÓGICA**

**CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS E INMUNOHISTOQUÍMICAS DE LOS  
CARCINOMAS DE MAMA DIAGNOSTICADOS EN PROGRAMAS DE CRIBADO DE  
CÁNCER DE MAMA**

Memoria que presenta para optar al título de Doctor la licenciada en Medicina y  
Cirugía, **M. Ángeles López García**

Directores de Tesis:

Dr. **JOSÉ PALACIOS CALVO**, Doctor en Medicina y Profesor Asociado en Ciencias de la Salud del Departamento de Medicina y Especialidades Médicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Alcalá (Henares) de Madrid. Jefe de Servicio de la unidad de Anatomía Patológica, H.U. Ramón y Cajal, Madrid

Dr. **RICARDO GONZÁLEZ CÁMPORA** Doctor en Medicina y Catedrático de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla

Tutor de Tesis:

Dr. **MANUEL DE MIGUEL RODRÍGUEZ**, Doctor en Ciencias Biológicas y Profesor Titular del Departamento de Citología e Histología Normal y Patológica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla



*ciberonc*



## RESUMEN

Clásicamente, se ha considerado que los carcinomas de mama detectados en los programas de cribado se asocian a un mejor pronóstico. Este hecho ha sido atribuido a que muestran un menor tamaño y se presentan en un estadio más precoz; sin embargo, estudios recientes han demostrado que existen otros factores relacionados con la biología de estos tumores que influyen directamente en su comportamiento clínico. El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea y hace algunos años se describieron, mediante técnicas de análisis de expresión genética, distintos subtipos moleculares (Luminal, HER2 y Basal) con diferencias en su presentación clínica y pronóstico. Posteriormente, y para facilitar su aplicación en la clínica, se ha propuesto una clasificación inmunohistoquímica subrogada de estos tipos moleculares, que ha sido aplicada solo ocasionalmente a los tumores detectados en programas de cribado. El presente trabajo de tesis se ha basado en el estudio de una serie de carcinomas de mama diagnosticados en el contexto del programa de cribado, para conocer sus características histopatológicas, inmunofenotípicas y pronóstico en comparación con carcinomas infiltrantes de mama sintomáticos. Dado que los distintos grupos de edad asocian tumores con características diferentes, hemos acotado nuestra serie al rango de edad del que es tributario el Programa de Cribado de cáncer de mama en Andalucía, entre 50 y 69 años.

Así, hemos demostrado que los carcinomas diagnosticados mediante cribado muestran características histopatológicas e inmunofenotípicas más favorables que los carcinomas sintomáticos, correspondiendo con mayor frecuencia a tipos histológicos asociados a buen pronóstico (tubular, cribiforme, etc.) y mostrando estadios más bajos al diagnóstico y mayor expresión de RH. Igualmente presentan con menor frecuencia características adversas como pueden ser la invasión vascular, grado histológico alto, sobreexpresión de HER2, o fenotipo triple negativo-basal. Como resultado, los carcinomas detectados mediante cribado muestran mejores tasas de supervivencia libre de recidiva y global. Sin embargo, la detección mediante cribado no aparece en nuestra serie como un factor pronóstico independiente de otros como el tamaño, estadio o fenotipo molecular.

# ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	10
1.1 CÁNCER DE MAMA .....	10
1.1.1 Incidencia .....	10
1.1.2 Etiología .....	10
1.1.3 Clasificación morfológica del cáncer de mama: Tipos histológicos .....	11
1.1.4 Clasificación molecular basada en perfiles de expresión genética .....	12
1.1.5 Factores pronósticos y predictivos de respuesta al tratamiento .....	16
1.1.6 Clasificación Molecular Subrogada .....	21
1.2 PROGRAMAS DE CRIBADO EN CÁNCER DE MAMA .....	23
1.2.1 Generalidades y controversias sobre los programas de cribado .....	23
1.2.2 Sesgos en el análisis de supervivencia atribuibles a características propias de los carcinomas detectados en los programas de cribado .....	26
1.2.3 Situación programa de cribado en Europa/España .....	28
1.2.4 Situación actual del Programa de Detección Precoz de cáncer de mama en Andalucía .....	28
1.2.5 Características patológicas de los tumores detectados en programas de cribado .....	30
2. OBJETIVOS .....	32
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	34
3.1 SELECCIÓN DE PACIENTES .....	34
3.1.1 Características clínico-patológicas y de seguimiento clínico .....	34
3.1.2 Selección de las muestras de estudio .....	35
3.1.3 Manejo de las muestras y construcción de matrices de tejido .....	35
3.2 INMUNOHISTOQUÍMICA Y TÉCNICAS DE HIBRIDACIÓN IN SITU .....	36
3.2.1 Tratamiento, desparafinación y desenmascaramiento antigénico .....	36
3.2.2 Hibridación in situ fluorescente (FISH) .....	36
3.2.3 Evaluación de marcadores inmunohistoquímicos y FISH .....	37
3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	39



## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DE LOS DIFERENTES SUBTIPOS MOLECULARES.....	15
TABLA 2. EVOLUCIÓN DE LA DEFINICIÓN DE FENOTIPOS MOLECULARES SUBROGADOS SEGÚN EL CONSENSO DE ST GALLEN.....	22
TABLA 3. RESULTADOS DEL CRIBADO CON MAMOGRAFÍA CADA 2 AÑOS DE MUJERES ENTRE LOS 50/51 AÑOS Y LOS 68/69 AÑOS (20 AÑOS).....	26
TABLA 4. ANTICUERPOS UTILIZADOS PARA INMUNOHISTOQUÍMICA Y CONDICIONES .....	40

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. REPRESENTACIÓN DE ALGUNOS DE LOS SUBTIPOS HISTOLÓGICOS ESPECIALES DE CÁNCER DE MAMA .....	12
FIGURA 2. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL SESGO DE ESTADIO/TIEMPO EN EL PROGRAMA CRIBADO DE CÁNCER DE MAMA .....	27
FIGURA 3. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL SESGO DE DURACIÓN DEL PROGRAMA DE CRIBADO DE CÁNCER DE MAMA .....	27
FIGURA 4. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL MÉTODO SEMICUANTITATIVO DE ALLRED .....	37
FIGURA 5. REPRESENTACIÓN DE BIOMARCADORES EN CÁNCER DE MAMA Y ALGUNOS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS Y TÉCNICAS DE HIBRIDACIÓN IN SITU UTILIZADOS.....	38

# INTRODUCCIÓN

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 CÁNCER DE MAMA

### 1.1.1 Incidencia

El cáncer de mama (CM) es el tipo de cáncer más frecuente en la mujer, constituyendo uno de los principales problemas de salud, con aproximadamente 14 millones de casos nuevos en el año 2015; actualmente representa la segunda causa de muerte por cáncer en la mujer en los países desarrollados. Se estima que el número aumentará a 22 millones de casos nuevos por año en las dos próximas décadas y que el riesgo de padecer CM a lo largo de la vida es de aproximadamente, 1 de cada 8 mujeres.

En España la incidencia de cáncer ha aumentado de forma progresiva en las últimas décadas, debido no solo al aumento poblacional o la introducción de las técnicas de detección precoz sino también al aumento de la esperanza de vida. Según los últimos datos publicados por la Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN), en el año 2014 se diagnosticaron 26.354 nuevos casos de CM, lo que supone el 12% de todos los casos de cáncer. La mortalidad por CM, sin embargo, ha ido disminuyendo, debido a las campañas de prevención, diagnóstico precoz y a los avances terapéuticos de los últimos años, reduciéndose hasta en un 2,4% entre períodos con una supervivencia relativa del 82,76 % a los 5 años.

### 1.1.2 Etiología

Se trata fundamentalmente de un carcinoma esporádico, con fuerte asociación con el estilo de vida y las condiciones ambientales (dieta, obesidad, actividad física, tóxicos o el medioambiente), siendo la proporción de casos que muestran predisposición genética inferior al 10%. Alteraciones genéticas en los genes BRCA1 y BRCA2 asocian una probabilidad de padecer un CM a lo largo de la vida de un 60-80%; sin embargo, la afectación de estos dos genes únicamente justifica el 30% de los carcinomas familiares. Así mismo, el CM puede presentarse en el contexto de otros síndromes tales como el síndrome de Li Fraumeni, por

mutaciones germinales en el gen p53, el síndrome de Cowden, consecuencia de mutaciones germinales del gen PTEN, el síndrome de Peutz-Jeghers, secundario a mutaciones germinales del gen STK11, la ataxia telangiectasia, enfermedad autosómica recesiva por mutaciones en el gen ATM, o bien en relación con mutaciones en el gen CHEK2 (1).

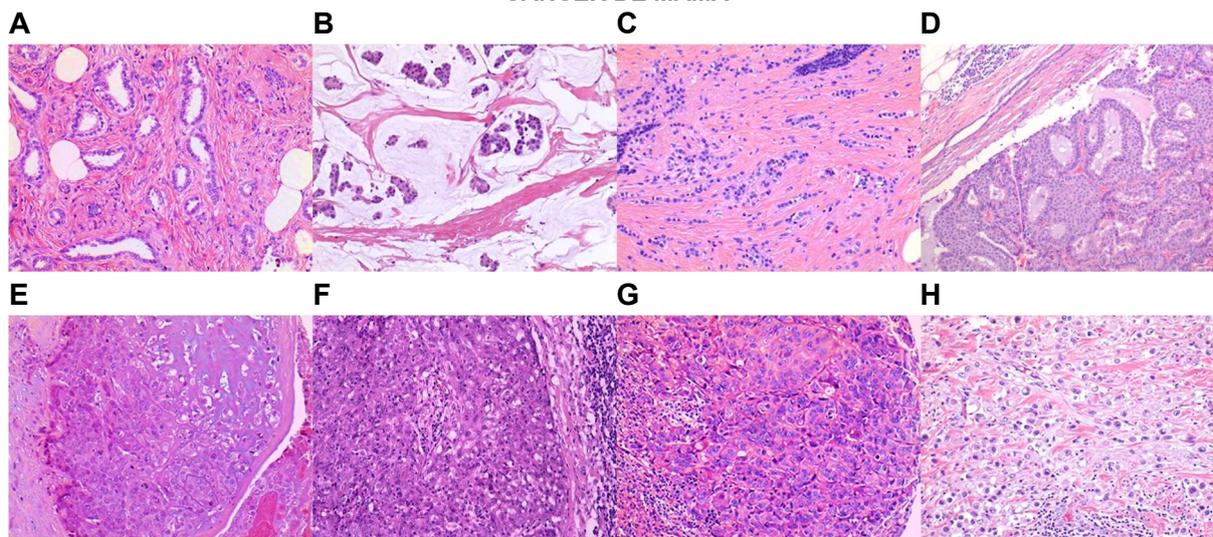
### 1.1.3 Clasificación morfológica del cáncer de mama: Tipos histológicos

La mayor parte de los CM (70-80%) son carcinomas de tipo no especial (NOS, previamente ductales), correspondiendo el 20-30% restante a subtipos histológicos especiales. En la última edición de la OMS (1) se reconocen al menos 21 tipos de éstos últimos (en la figura 1 se representan algunos de éstos). Las características fenotípicas de los tumores, que determinan a qué subtipo histológico pertenecen, reflejan complejas alteraciones moleculares, diferentes entre los distintos tipos, y confieren características biológicas y pronósticas distintas. Tipos como los carcinomas tubulares, cribiformes, el carcinoma adenoide quístico o el secretor (juvenil) muestran un pronóstico excelente, mientras que otros, como los carcinomas metaplásicos, tienen un comportamiento muy agresivo. Así mismo, muestran perfiles inmunofenotípicos característicos que contribuyen al pronóstico diferente; los carcinomas tubulares muestran una expresión de receptores de estrógenos (RE) elevada, ki67 bajo y negatividad para el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2), mientras que los carcinomas metaplásicos característicamente son triples negativos (TN) (ausencia de expresión de RE, receptores de progesterona (RP) y HER2) y expresan citoqueratinas (CK) basales (CK5/6, CK14, CK17, etc.).

Determinados subtipos especiales, se caracterizan por alteraciones moleculares específicas que pueden conferir una apariencia determinada o un comportamiento diferencial, como es el caso de los carcinomas lobulillares (CLI), que característicamente muestran pérdida de expresión de cadherina E, molécula que constituye parte del sistema de adhesión celular catenina-cadherina responsable tanto del aspecto discohesivo del tumor, que dificulta su detección por pruebas de imagen, como por un patrón metastásico característico, con frecuente afectación de serosas o el sistema digestivo. Otros tumores muestran

traslocaciones diagnósticas como es el caso del carcinoma adenoide quístico, t(6,9) (q22-23;p23-24) responsable de la fusión MIB-NFIB y que es independiente de la localización, o el carcinoma secretor t(12;15) que crea el gen de fusión ETV6-NTRK3, que comparte con otras neoplasias como el fibrosarcoma congénito o el nefroma mesoblástico congénito (1).

**FIGURA 1. REPRESENTACIÓN DE ALGUNOS DE LOS SUBTIPOS HISTOLÓGICOS ESPECIALES DE CÁNCER DE MAMA**



**Microfotografías representativas de distintos subtipos histológicos especiales de cáncer de mama. A.** Carcinoma tubular, **B.** Carcinoma mucinoso, **C.** Carcinoma lobulillar de tipo clásico, **D.** Carcinoma papilar encapsulado (CPE), **E.** Carcinoma metaplásico (diferenciación condroide), **F.** Carcinoma con diferenciación medular, **G.** Carcinoma con diferenciación apocrina, **H.** Carcinoma lobulillar infiltrante de tipo pleomórfico (CLI-P).

### 1.1.4 Clasificación molecular basada en perfiles de expresión genética

Los estudios de agrupamiento no supervisado de Perou y cols (2) demostraron que la heterogeneidad morfológica de los CM quedaba reflejada también a nivel transcripcional. El análisis de expresión de 1.753 genes en tres muestras de tejido mamario normal, un fibroadenoma y cuarenta muestras de diferentes tumores de mama reveló que, los tumores se agrupaban en dos ramas principales, dependiendo de la positividad o negatividad para RE, y que existían subgrupos adicionales secundarios más pequeños. El grupo RE+ se caracterizaba por mostrar alta expresión de un grupo de genes (RE, RP, GATA, BCL-2, CK8, CK18), que característicamente expresa el epitelio luminal de la mama (carcinoma “luminal”). Dentro del brazo de los tumores RE- se identificaron tres subgrupos diferentes; uno que mostraba expresión de altos niveles de genes incluidos en el amplicón del HER2, localizado

en el cromosoma 17q21, incluyendo el HER2 y otros como el GRB7. Los casos incluidos en el subgrupo denominado normal-like, que correspondían a las muestras de mama normal y fibroadenoma, sobre-expresaban genes propios de las células mioepiteliales de la mama normal y de las células adiposas, mientras que presentaban disminución de la expresión de genes característicos de las células luminales. Los tumores incluidos en el subgrupo basal (basal-like) fueron en una amplia mayoría negativos para RE, RP y HER2 y expresaban de forma característica genes normalmente expresados por las células mioepiteliales de la mama como CK5/6, CK17, integrina  $\beta$  4 y laminina.

Estudios posteriores han confirmado la presencia de estos grupos moleculares y han servido para refinar y demostrar la validez clínica de la clasificación (3-7). En este sentido, es destacable el estudio realizado en 2012 por el consorcio The Cancer Genome Atlas, donde estudiaron 825 muestras de pacientes usando distintas plataformas (expresión de ARNm, estudios de metilación del ADN, arrays de SNP, secuenciación de microARN, secuenciación masiva y RPPA) y demostraron que los grupos intrínsecos Luminal A, Luminal B, HER2 y Basal recapitulaban gran parte de la diversidad biológica en CM (8).

Así mismo, se ha demostrado que la información que aporta el subtipo molecular complementa y enriquece la de los marcadores clásicos clínico-patológicos (4, 7).

La principales características clínico-patológicas de los tipos moleculares del CM se pueden resumir en las siguientes:

- Luminal A. Constituye el 50-60% de los tumores luminales. Se caracteriza por su buen pronóstico y menor tasa de recaídas, siendo las metástasis óseas las más frecuentes. Presenta mayor supervivencia en caso de recaída, alta tasa de respuesta a la hormonoterapia y escaso beneficio a la quimioterapia, tanto en adyuvancia como en neoadyuvancia.
- Luminal B. Constituye un 10-20% de todos los tumores luminales. Presenta expresión moderada o baja de RE y mayor tasa de expresión de genes relacionados con el ciclo celular y la proliferación. Representa el grupo de tumores luminales de mal pronóstico. A

diferencia de lo que ocurre en el Luminal A, la tasa de metástasis viscerales es mayor y la supervivencia desde el diagnóstico de la recidiva es menor. Se beneficia del tratamiento con hormonoterapia y quimioterapia.

- HER2. Asocia peor pronóstico que el grupo luminal siendo, no obstante, tributario de un tratamiento específico, tanto con anticuerpos monoclonales trastuzumab o pertuzumab, inhibidores tirosin-quinasa como lapatinib o T-DM1. Muestra altas tasas de respuesta a esquemas de quimioterapia que incluyan antraciclinas y/o taxanos y un patrón excelente de respuesta a la terapia sistémica primaria (TSP).
- Tipo basal (Basal-like). El fenotipo basal se incluye dentro de los tumores TN, que suponen el 10-15% de los CM. Se asocia con la expresión de genes característicos de las células mioepiteliales y basales del acino mamario, de BRCA1 y receptor 1 del factor de crecimiento epidérmico humano (EGFR). Se trata de un grupo muy heterogéneo de neoplasias con distinta morfología y pronóstico (tanto los carcinomas medulares, como los metaplásicos o los secretores, son basales); sin embargo, en líneas generales se caracterizan por altas tasas de proliferación y mal pronóstico clínico, siendo peor que el resto de los TN. Responden a la quimioterapia basada en antraciclinas y taxanos y, en los casos que hay alteraciones en la vía BRCA, a las sales de platino, si bien las respuestas pueden ser cortas. En los últimos años, la posibilidad de terapias dirigidas (inhibidores de PARP) está en estudio. No existe, sin embargo, consenso sobre una definición exacta de un carcinoma tipo basal desde un punto de vista inmunohistoquímico, y se han propuesto distintas aproximaciones: 1) ausencia de expresión de RE, RP y HER2; 2) expresión de una o más CKs de alto peso molecular/ CKs basales (CK5/6, CK14 o CK17); 3) ausencia de expresión de RE, HER2 y expresión de CK5/6 y/o del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) (9) 4) ausencia de expresión de RE, RP y HER2 y expresión de CK5/6 y/o EGFR (10). En los últimos años, distintos grupos han abordado este tema y han sugerido marcadores más específicos (11) o paneles más amplios (incluyendo otras CK basales como CK14, CK17, p63, p-cadherina o c-kit). La clasificación propuesta por el grupo de Nielsen, estudiando 930 pacientes con un panel de inmunohistoquímico, basada

en 4 marcadores (RE, HER2, CK5/6 y EGFR), no solo conseguía detectar adecuadamente a los carcinomas basales con una buena especificidad, sino que además definía a un grupo de tumores con un peor pronóstico (9). La tabla 1 muestra las principales características moleculares y genéticas de los distintos subtipos moleculares.

En los últimos años, se han hecho grandes esfuerzos para intentar esclarecer las diferencias morfológicas, pronósticas y de respuesta al tratamiento, tan evidentes, en los CM TN. Si bien clásicamente los términos TN y basal se ha considerado similares, hoy sabemos que en este grupo TN se pueden identificar todos los fenotipos moleculares, siendo el basal el más frecuente, aunque con diferencias sustanciales entre series (12-14). En el año 2011, Lehmann y cols (15) demostraron que los CM TN son tumores heterogéneos desde un punto de vista transcripcional y los agruparon en primer lugar en 6 subtipos (basal1 y 2, mesenquimal, mesenquimal-stem like, inmunomodulador y Luminal Androgénico), que posteriormente redujeron a 4 con diferencias biológicas: basal 1 y 2 (BL1 y 2), mesenquimal (M) y luminal receptor de andrógenos (LAR) (16). El subtipo BL1 se caracterizaba por una alta expresión de genes relacionados con ciclo celular y de respuesta al daño en ADN y el subtipo BL2 por marcadores mioepiteliales y vías de señalización relacionadas con factores de crecimiento. El subtipo M por genes implicados en la transición epitelio-mesénquima y en las vías de señalización relacionadas con factores de crecimiento. El subtipo LAR por expresión de genes luminales y el receptor de andrógenos. Estos grupos mostraban diferencias en cuanto a edad al diagnóstico, grado, progresión local y a distancia e histología. Así mismo, encontraron que los distintos subtipos mostraban diferencias importantes en términos de respuesta al tratamiento; un 41% de los BL1 mostraban respuesta patológica completa (RpC) en comparación con un 18% para BL2 o un 29% en los LAR. Estos resultados han sido confirmados recientemente (17).

**TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DE LOS DIFERENTES SUBTIPOS MOLECULARES**

<b>Fenotipos</b>	<b>Características genéticas y pronósticas*</b>	<b>Características moleculares**</b>
------------------	---	--------------------------------------

<b>RE+</b>		34-66%
<b>Luminal A</b>	Alta expresión de RE y genes relacionados con RE (FOXA1, PgR, BCL2, EsR1, GATA3...).	Mutaciones de PIK3CA (49%), TP53 (12%), GATA3 (14%), MAP3K1 (14%)
	Mejor pronóstico	Expresión mRNA baja proliferación
<b>Luminal B</b>	Expresión de "genes luminales" (FOXA1, PgR, BCL2, EsR1, GATA3). Incremento de genes asociados a proliferación (CNNB1, CCND1, CCNE1, MYBL2...).	Mutaciones de PIK3CA (32%), TP53 (32%), MAP3K1 (5%) Amplificación ciclina D1 (58%)
	Peor pronóstico	Expresión mRNA alta proliferación
<b>RE-<sup>†</sup></b>		30-45%
<b>HER2</b>	Expresión de genes localizados en amplicón HER2 (17q11) (HER2, GRB7, GATA4) y altos niveles de activación de NF-κB y mutaciones de TP53.	Mutaciones de PIK3CA (42%), TP53 (75%), PIK3R1 (8%)
	Comportamiento clínico agresivo, mal pronóstico.	Expresión mRNA alta proliferación
<b>Tipo basal</b>	Expresión de genes característicos de las células basales/mioepiteliales (CK5 y 17, integrina4, laminina, c-KIT, p-cadherina, EGFR, α6-integrina o NF-κB). Mutaciones BRCA1.	Mutaciones de PIK3CA (7%), TP53 (84%) Expresión mRNA alta proliferación
	Comportamiento clínico agresivo, mal pronóstico.	

\* según técnicas de expresión génica y \*\* según The Cancer Genome Atlas Network; <sup>†</sup> se caracterizan por ausencia de expresión de receptores hormonales (RH) y niveles bajos o inexistentes de otros marcadores luminales, pero desde un punto de vista molecular y biológico, son diferentes

### 1.1.5 Factores pronósticos y predictivos de respuesta al tratamiento

Los factores pronósticos y predictivos más utilizados en la práctica clínica en CM son: la edad, el estado menopáusico de la paciente, TNM, morfológicos (tipo histológico, grado histológico del tumor primario), biológicos (estado del RE y RP), sobreexpresión o

amplificación del gen HER2, proliferación medida por la expresión de ki67, y genéticos (plataformas genéticas). Algunos de ellos comparten capacidad pronóstica y predictiva como pueden ser RE, HER2 o algunas plataformas genéticas.

### 1.1.5.1 Estadificación clínico-patológica

El CM se estadifica mediante el sistema TNM (American Joint Committee of Cancer (AJCC)/ Unión Internacional Contra el Cáncer (UICC)) ([www.uicc.org](http://www.uicc.org)). Éste se basa en los parámetros: tamaño del tumor o extensión directa (T), afectación de los ganglios linfáticos regionales (N) y cualquier metástasis a distancia (M). Posteriormente se combinan estos grupos (T0, T1-4, N0, N1-3 y M0, M1) en categorías similares desde un punto de vista pronóstico: estadios, que se numeran de I a IV en orden de expectativa decreciente de supervivencia. Existen subclasificaciones para la estadificación clínica, patológica y especificaciones para situaciones concretas como los tumores sometidos a terapia sistémica primaria (TSP). Recientemente se ha publicado una nueva versión del sistema de estadificación TNM/AJCC con implantación obligatoria en este año 2018. Ésta incorpora modificaciones importantes, como es el estadio pronóstico, que se establece mediante el grado histológico, el estado de RE, RP y HER2 y el resultado de las plataformas genéticas (18).

### 1.1.5.2 Grado histológico

Constituye un factor pronóstico y predictivo independiente en todos los estadios de la enfermedad, aportando información biológica sobre el tumor directamente relacionada con la proliferación, la arquitectura, las alteraciones nucleares y la expresión de inestabilidad cromosómica (19). La OMS recomienda usar la modificación de Nottingham (Elston-Ellis) del sistema de gradación de Patey-Scarff y Bloom-Richardson (20), en el que se evalúan las variables formación de túbulos, grado de pleomorfismo nuclear e índice mitótico en una gradación de 1 a 3. El grado final deriva de la suma de estos parámetros: 3-5 bajo grado o 1, 6-7 grado intermedio o 2, 8-9 alto grado o 3.

### 1.1.5.3 Expresión de receptores hormonales

En general, el 70-75% de los CM expresan RE y 60-70% co-expresan RP. La expresión de RE es un factor favorable de buen pronóstico y es un potente predictor de respuesta a la terapia hormonal (21). Con respecto al RP, cuya expresión está regulada por el RE, se ha demostrado que tiene valor pronóstico independiente al del RE (22); los tumores RE-/RP- o RE+/RP- muestran un aumento del riesgo de mortalidad independientemente del grado histológico (23), y algunos estudios recientes sugieren que niveles de RP <20% pudieran tener implicaciones pronósticas e incluso establecerse como uno de los parámetros para estratificar el subtipo luminal (24). Así mismo, la positividad para RH se relaciona con otras variables de pronóstico favorable tales como edad avanzada, grado histológico 1 o 2 y baja proliferación. Los tumores RH positivos muestra un patrón de recurrencia definido por un menor número de recaídas precoces y una mayor probabilidad de recidivas tardías (25), así como localizaciones metastásicas “más favorables” como son hueso, tejidos blandos, pleura o pulmón. En los últimos años, el grupo reducido de pacientes con expresión de RE de 1-9% ha creado controversia, ya que se trata de un subgrupo poco representado en los estudios clínicos pero que parece caracterizarse por un pronóstico desfavorable, más parecido al de los tumores RH negativos (26) De forma antagónica a lo que ocurre en adyuvancia, donde la expresión cualitativa de RE es claramente predictiva de la respuesta al tratamiento hormonal (27) en situaciones de TSP ha demostrado ser un factor predictivo negativo de RpC (28).

### 1.1.5.4 Expresión y amplificación de HER2

La expresión de HER2 constituye un potente factor pronóstico y predictivo de respuesta al tratamiento. Está descrito que alrededor del 17% de los CM muestran sobreexpresión o amplificación del gen HER2 y que estos tumores representan un subtipo muy agresivo (29) Sin embargo, tras la introducción de fármacos específicos (primero el anticuerpo monoclonal trastuzumab y posteriormente pertuzumab, los inhibidores tirosin-kinasa o TDM-1), el pronóstico de estos pacientes ha mejorado significativamente. Así mismo,

se ha observado una relación positiva entre la sobreexpresión de HER2 y buenas respuestas a la TSP, describiéndose en algunas series tasas de RpC de hasta el 37% (30).

### 1.1.5.5 Índice proliferativo ki67

La expresión de ki67 sirve para evaluar la actividad proliferativa de un tumor. Su valor pronóstico en tumores RH+ con ganglios negativos ha sido demostrado (31), así como en el contexto de TSP, donde tumores con ki67 bajos tras la quimioterapia neoadyuvante mostraban un pronóstico similar a los tumores con RpC (32). En esta línea, el Ki67 forma parte de distintos modelos matemáticos para obtener un valor pronóstico en CM, como son el índice PEPI, RPCB, IHC4 o MS. Por otra parte, ha sido particularmente útil para estratificar grupos de riesgo en carcinomas con expresión de RH. En los distintos consensos de St Gallen, se han propuesto diferentes puntos de corte de ki67 para discriminar entre carcinomas Luminal A y Luminal B (14%, 20%) en solitario o en conjunto con niveles bajos de RP (<20%). Desde la introducción de las plataformas genómicas, sin embargo, su utilidad clínica está en entredicho, debido a la falta de estandarización y de capacidad para definir puntos de corte para discriminar altas y bajas tasas de proliferación (33) si bien, en conjunto con otros factores clínicos y en el contexto de tumores RE+, hay datos que sugieren que conserva su aplicabilidad, siendo comparable al del análisis de expresión génica (34). Su capacidad predictiva de respuesta al tratamiento como dato independiente o en conjunto con RH y HER2 ha quedado también demostrada (35).

### 1.1.5.6 Plataformas genéticas

El manejo del CM se ha basado durante años en los factores pronósticos y predictivos clínicos y patológicos previamente comentados, que determinaban las decisiones terapéuticas. Sin embargo, con el aumento de las posibilidades de tratamiento, existía la percepción de que estos factores tradicionales no eran suficientes para reflejar la heterogeneidad molecular y clínica de la enfermedad.

La incorporación de las plataformas genéticas ha modificado radicalmente el manejo de pacientes con tumores de buen pronóstico RE+/HER2- y con ganglios negativos. El principal uso de todas ellas es evaluar el riesgo de metástasis, permitiendo la mejor estratificación de las pacientes para identificar aquellas en las que podría omitirse, con la seguridad adecuada, la quimioterapia adyuvante. Durante los últimos años, se han desarrollado diferentes plataformas genéticas, que, sin embargo, difieren en la metodología utilizada para cuantificar la expresión génica, los genes estudiados, las variables clínico-patológicas incluidas, la estratificación en grupos de riesgo o si el test se realiza o no de forma centralizada. Las principales son

- MammaPrint®. Se basa en el uso expresión génica y se diseñó para ser aplicada a tejido en fresco-congelado, siendo posteriormente validado para su aplicación a muestras parafinadas, con alta concordancia. Utiliza 70 genes que se relacionan con resistencia a la apoptosis, proliferación, ciclo celular, motilidad celular o angiogénesis. Da un resultado dicotómico (bajo y alto riesgo). Está aprobado su uso por la FDA para pacientes RE+/HER2- en estadios I/II y con 0-3 ganglios positivos, para determinar el riesgo de recaída a 10 años. También para el uso de quimioterapia en pacientes de alto riesgo, según el último ASCO 2017 y St Gallen 2017
- Oncotype DX®. Calcula un índice de recidiva -Recurrence Score (RS)- en base a la expresión de 21 genes (16 relacionados con RE, proliferación, HER2 o invasión y 5 genes de referencia para normalizar). Se desarrolló como una PCR a tiempo real para tejido parafinado. Define tres grupos, bajo, intermedio y alto con diferente probabilidad de recurrencia esperada para cada uno de estos. Es la única plataforma genómica incorporada con nivel I de evidencia en la última edición del manual de la AJCC (18). Su uso está indicado para la toma de decisión del tratamiento adyuvante en estadios iniciales, RE+, HER2- y con 0-3 ganglios positivos y tiene valor predictivo para el beneficio de la quimioterapia.
- PAM50/Prosigna®. En 2009 se presentó este predictor, que mide la expresión de 50 genes e incluye el tamaño tumoral como variable clínico-patológica. Proporciona un riesgo de recidiva -Risk of Recurrence (ROR)- en tres niveles: bajo, intermedio o alto. Identifica

pacientes con enfermedad RE+/HER2- que no necesitan poliquimioterapia adyuvante dado su bajo riesgo de recidiva a 10 años sin ella, así como, las que no necesitarían terapia hormonal más allá de 5 años, dado su bajo riesgo de recidiva tardía. Además, esta plataforma identifica el subtipo molecular siguiendo las recomendaciones del consenso de St Gallen.

- Endopredict®. Se trata de un clasificador de segunda generación, desarrollado para realizarse mediante PCR a tiempo real, de forma descentralizada. Mide la expresión de 8 genes relacionados con proliferación celular, apoptosis, reparación del ADN y adhesión y 4 genes control. Calcula un índice de riesgo molecular, el EP1 que clasifica en alto y bajo riesgo. Además, la combinación de dos variables clínico-patológicas (tamaño tumoral y estado ganglionar) con el EP1, permite establecer un índice clínico -EP-clin-. En las últimas guías clínicas ha sido incluido como test pronóstico y predictivo en pacientes RE+/HER2-

### 1.1.6 Clasificación Molecular Subrogada

Dada la importancia clínica y la utilidad de la clasificación molecular para el tratamiento de los pacientes, se han realizado esfuerzos para determinar mediante métodos más accesibles, como es la inmunohistoquímica, a qué tipo molecular pertenece un tumor. Por tanto, en la práctica clínica se utiliza un panel de cuatro marcadores (RE, RP, ki67 y HER) para determinar de forma subrogada el fenotipo molecular. A lo largo de los años las conferencias de consenso de St Gallen han propuesto distintas clasificaciones basadas en la determinación inmunohistoquímica de estos cuatro marcadores (ver en [tabla 2](#) la evolución de las distintas definiciones).

- Luminal A-like. RE+/HER2- con ki67 <14% o con expresión de ki67 del 14% al 19% con expresión de RP >20%
- Luminal B-like (HER2-). RE+/HER2- con ki67 >20% o con expresión de ki67 del 14% al 19% con RP- o <20%.
- Luminal B-like (HER2+). RE+/HER2+ con cualquier expresión de RP o ki67
- HER2-positivo. RE-/RP-/HER2+ con cualquier expresión de ki67.

- TN. RE-/RP-/HER2- con cualquier expresión de ki67.

**TABLA 2. EVOLUCIÓN DE LA DEFINICIÓN DE FENOTIPOS MOLECULARES SUBROGADOS SEGÚN EL CONSENSO DE ST GALLEN**

	St Gallen 2011 <sup>(36)</sup>	St Gallen 2013 <sup>(37)</sup>	St Gallen 2015 <sup>(38)</sup>	St Gallen 2017 <sup>(39)</sup>
<b>Fenotipos moleculares</b>	<b>Definición clínico-patológica</b>			
<b>Luminal A</b>	RE y/o RP+ HER2- Ki67<14%*	RE+/HER2- ki67<14%* expresión de ki67 del 14- 19% con expresión de RP>20%	RE/RP alto <sup>x</sup> Ki67 bajo N 0–3, T1 T2  Intermedio (test genético)	RE/RP alto Ki67 bajo G1-2  Intermedio (test genético)
<b>Luminal B</b>	Lum B HER2-: RE y/o RP+ HER2- Ki67 alto Lum B HER2+: RE y/o RP+ HER2+ Cualquier ki67	Lum B HER2-: RE+/HER2- con ki67>20% o con expresión de ki67 del 14- 19% con RP- ó <20% <sup>£</sup> Lum B HER2+: RE y/o RP+ HER2+ Cualquier ki67	RE/RP bajo Ki67 alto N mayores, G3, invasión vascular, T3 o >	RE/RP bajo Ki67 alto G3
<b>HER2</b>	RE y RP- HER2+	RE y RP- HER2+	RE y RP- HER2+	RE y RP- <sup>α</sup> HER2+
<b>Basal</b>	TN** RE y RP- HER2-	TN** RE y RP- HER2-	TN RE y RP- HER2-	TN <sup>α</sup> RE y RP- HER2-

\* punto de corte establecido por comparación con PAM50<sup>(40)</sup>; \*\* TN y basal presentan una concordancia del 80% (atención a tipo histológicos especiales con pronóstico bueno (p ej carcinoma adenoide quístico); <sup>£</sup> punto de corte de RP>20% definido por Prat y cols<sup>(24)</sup>; <sup>x</sup> la enfermedad luminal es considerada como un espectro. Los casos RE 1-9% los considera equívocos y recalca la posible no respuesta a hormonoterapia en este grupo; <sup>xx</sup> separa el grupo RE+/HER2+ del grupo Luminal B; <sup>α</sup> los subtipos basal y HER2 únicamente se pueden definir mediante firma genética.

En ésta se ha considerado que la inmunohistoquímica es capaz de reflejar la biología de los tumores; no obstante, dada la dificultad para estandarizar y definir un punto de corte óptimo para el índice proliferativo ki67, encaminado a distinguir entre tumores Luminal A y B, se reconoce la importancia de las plataformas genómicas, para orientar en el pronóstico y ayudar

a la toma de decisiones en la indicación de tratamiento quimioterápico en tumores RH positivos.

Es bien conocido que esta clasificación no es completamente concordante con la que se obtendría mediante técnicas de análisis de expresión genética (13, 14), siendo el subtipo HER2, donde mayores discordancias se observa; solo el 72% de los tumores que mostraban HER2 3+ mediante inmunohistoquímica o mostraban amplificación mediante técnicas de hibridación in situ correspondían al subtipo HER2 mediante Prosigna en el ensayo N9831 (41); estas discrepancias están en parte justificadas por la asignación como tumores luminales B por esta plataforma de tumores que co-expresan RH/HER2+.

## 1.2 PROGRAMAS DE CRIBADO EN CÁNCER DE MAMA

### 1.2.1 Generalidades y controversias sobre los programas de cribado

Los programas de cribado de CM fueron implantados a partir de los años 80, fundamentalmente en los países del Norte de Europa. Posteriormente fueron extendiéndose al resto de los países de la Unión Europea, incorporándose España en los años 90. Actualmente, se recomienda el cribado poblacional por parte de las Instituciones Europeas e Internacionales, definido por la identificación e invitación personal de la población diana; esto es, mujeres entre los 50 y los 69 años; si bien existen todavía países con un rango de edad más amplio.

A lo largo de estos años, el programa de cribado ha sido objeto de controversia, a pesar de suponer una de las intervenciones públicas en salud más desarrolladas y analizadas. Ensayos clínicos aleatorizados llevados a cabo durante los años 70-80 mostraron que el cribado reducía la mortalidad por CM en un 25-30%, tras 7 a 12 años de entrada en el ensayo (42, 43). Sin embargo, años después surgieron dudas sobre la validez de algunos de estos estudios desde un punto de vista metodológico (44, 45) y, más recientemente, se han analizado críticamente estudios observacionales sobre el impacto de los programas de cribado poblacional (46). Dos revisiones sistemáticas de todos los ensayos publicados fueron llevadas a cabo por dos grupos independientes - U.S. Preventive Services Task Force y Nordic

Cochrane Centre- sugiriendo efectos en supervivencia del 15-16% (47, 48) En países con gran tradición de programas de cribado, sin embargo, encontraron que en el contexto del cribado se producían disminuciones de la mortalidad por cáncer inferiores a países en los que no se aplicaban estos programas de forma tan masiva, y que esta reducción en el grupo tributario de cribado (50-69 años) era similar a la observada en el grupo de menos de 49 años (~20%), atribuyendo parte de este hecho a la mejora en el tratamiento y manejo de las pacientes con CM (49, 50). Por otra parte, se ha argumentado que en el contexto de los programas de cribado los tumores de estadio más avanzados deberían ser menos frecuentes (51), sin embargo, esto no parece ocurrir; se ha descrito un incremento de carcinomas in situ y carcinomas infiltrantes de estadios bajos. Una revisión sistemática (52) de varios países, encontró que la tasa de CM de más de 20 mm no se veía afectada por los programas de cribado.

Otro punto controvertido es el grado de información de efectos negativos potenciales que se oferta a la paciente fundamentalmente en términos de sobrediagnóstico de tumores que de otra forma no hubieran sido diagnosticados clínicamente (53). De hecho, se han publicado estudios en los que los carcinomas sobre-diagnosticados suponían el 32% de todos los carcinomas diagnosticados en pacientes en rango de edad de ser invitadas al cribado y el 52% de los tumores diagnosticados en el seno del cribado. Así, concluyen que por cada muerte evitada por el cribado, alrededor de 14 mujeres serían sobre-diagnosticadas de un carcinoma in situ o infiltrante estadio I (50).

En el estudio de Paci y cols (54) se revisan y sintetizan los datos publicados sobre los beneficios y los efectos adversos en los programas de cribado europeos teniendo en cuenta la validez metodológica de los diseños y los análisis estadísticos de todos los estudios analizados (ver resumen en [tabla 3](#)). En contraposición a lo previamente argumentado, este estudio tiende a confirmar el beneficio del cribado en términos de muertes evitadas y muestra que este beneficio compensa el daño causado por el sobrediagnóstico. Los resultados de la revisión indican que por cada 1.000 mujeres de 50-69 años cribadas cada dos años, se

diagnostican 71 cánceres, 4 más que si no se realizara el cribado, pero se evitan entre 7 y 9 muertes por este tumor (de las 30 esperadas). Los datos más relevantes del estudio son

- Beneficios del cribado: los estudios metodológicamente más válidos indican una reducción de la mortalidad por cáncer de mama del 25% -31% en el conjunto de las mujeres invitadas, participen o no en los programas, y del 38%-48% para las mujeres que realmente se han explorado. Hay que tener en cuenta, no obstante, que los estudios de tendencias de la mortalidad tienen grandes limitaciones para evaluar el efecto del cribado. Buena parte de la controversia sobre la efectividad de los programas de cribado se sustenta en este tipo de estudios, que pueden mostrar distintos sesgos, tal como se comenta más adelante.
- Sobre-diagnóstico: la estimación más plausible del sobrediagnóstico es del 6,5% (1% -10%). Se diagnostica un 6,5% más de casos de CM de los que se hubieran diagnosticado sin cribado. Esta estimación está muy alejada de los valores del 50% o superiores de publicaciones que utilizan diseños de estudio y análisis menos adecuados para el estudio de este resultado.
- Falsos positivos (FP): el riesgo acumulado de tener un resultado falso positivo en una mujer de 50/ 51 años que se criba cada 2 años hasta los 68/69 años (10 exploraciones consecutivas) es del 20% (8%-21%), del 17% si se consideran las mujeres a las que solo se ha realizado procedimientos no invasivos y del 3% si se consideran a las mujeres a las que se ha realizado algún procedimiento invasivo (biopsia)

**TABLA 3. RESULTADOS DEL CRIBADO CON MAMOGRAFÍA CADA 2 AÑOS DE MUJERES ENTRE LOS 50/51 AÑOS Y LOS 68/69 AÑOS (20 AÑOS)**

	<b>Por cada 1000 mujeres cribadas durante 20 años</b>	<b>Número de mujeres que se han de cribar (durante 20 años)</b>
<b>CM diagnosticados</b>	71 casos de CM	14 mujeres para diagnosticar 1 CM
<b>Reducción en la mortalidad</b>	7-9 muertes evitadas (de 30 esperadas)	111-143 mujeres para evitar una muerte
<b>Sobre-diagnóstico</b>	4 casos (a añadir a los 67 esperados)	Por cada 150 mujeres cribadas se sobrediagnosticará 1 caso
<b>Falsos positivos</b>	200 con FP -170 con solo pruebas no invasivas -30 con pruebas invasivas (biopsia)	Por cada 6 mujeres cribadas 1 mujer tendrá 1 FP con pruebas no invasiva  Por cada 53 mujeres cribadas 1 mujer tendrá 1 FP con pruebas invasivas (biopsia)

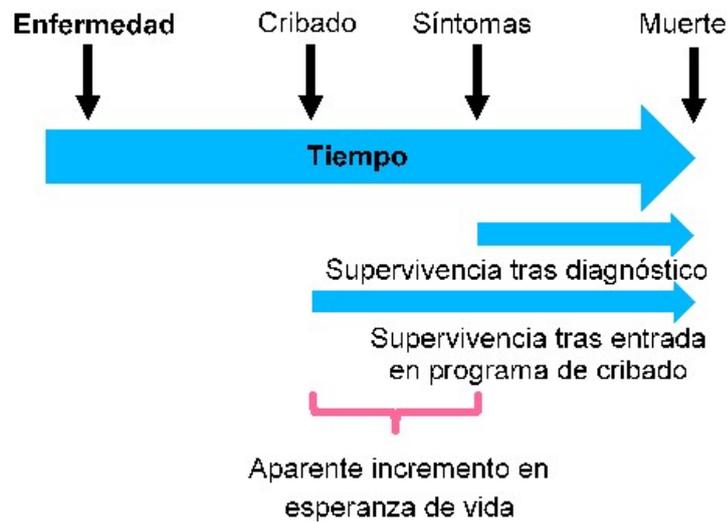
<sup>a</sup> las mujeres se siguen hasta los 79 años ya que el beneficio de cribar a una mujer de 65-69 años puede tardar años en manifestarse

### 1.2.2 Sesgos en el análisis de supervivencia atribuibles a características propias de los carcinomas detectados en los programas de cribado.

Los CM diagnosticados en el contexto de programas de cribado muestran un estadio más temprano que los sintomáticos. Esto se ha considerado un reflejo de lo que se denomina sesgo por tiempo (tiempo que transcurre entre el diagnóstico de un tumor por mamografía y el momento en que este tumor hubiera sido diagnosticado fuera de un programa de cribado). Este sesgo tiempo-dependiente alarga, aparentemente, el tiempo de supervivencia siendo el responsable, al menos en parte, del mejor pronóstico que asocian los carcinomas diagnosticados en programas de cribado. Sin embargo, el tratamiento no produciría un impacto en la supervivencia de la paciente, que podría morir en el mismo momento en que lo hubiera hecho en caso de haber sido diagnosticado clínicamente. En esta situación, en realidad el cribado no ha aumentado la supervivencia ni mejorado el pronóstico, sino que la

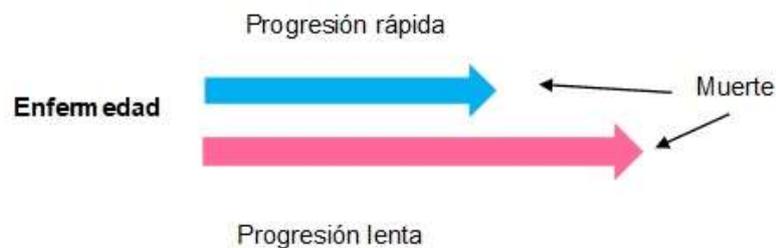
paciente ha sido simplemente diagnosticada cierto tiempo antes y ha conocido su enfermedad durante más tiempo.

FIGURA 2. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL SESGO DE ESTADIO/TIEMPO EN EL PROGRAMA CRIBADO DE CÁNCER DE MAMA



Otro factor que contribuye al mejor pronóstico de estos tumores es el sesgo de duración de la enfermedad. Los carcinomas diagnosticados en los programas de cribado incluyen un mayor número de carcinomas de crecimiento lento, que tienden a mostrar una mejor supervivencia incluso en la ausencia de detección por cribado; por el contrario, los tumores con crecimiento más rápido y fases preclínicas más breves tienen mayor probabilidad de ser diagnosticados clínicamente entre cribado y cribado, formando el grupo de los denominados cánceres de intervalo.

FIGURA 3. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL SESGO DE DURACIÓN DEL PROGRAMA DE CRIBADO DE CÁNCER DE MAMA



### 1.2.3 Situación programa de cribado en Europa/España

El rango de edad 50-69 años, es el recomendado por la Agencia Europea y es el más extendido a lo largo de los programas europeos, con excepciones concretas basadas en prioridades puntuales. Por tanto, la población diana anual, considerando la mitad de la población femenina total en ese rango de edad, dado el intervalo bianual entre mamografías, es de 32 millones de mujeres. De éstas, el 78,9% han sido invitadas en 2013 y 15 millones han sido sometidas a una mamografía, que supone una cobertura del 49,2%. La media de detección de un carcinoma infiltrante en el programa de cribado en Europa fue de 5,2 por 1000 (rango de 1,8-8,1) mujeres sometidas a una mamografía de cribado.

En España, la mayor parte de las comunidades autónomas tienen instaurados programas de cribado poblacionales. La tasa de cobertura de participación según los datos del 2013 es del 70,4%. La media de detección de un carcinoma infiltrante en el programa de cribado en España fue de 4,5%/1000 pacientes sometidas a mamografía.

### 1.2.4 Situación actual del Programa de Detección Precoz de cáncer de mama en Andalucía

En Andalucía, el Programa de Detección Precoz del CM (PDP-CM) se inició en 1995 y se fue extendiendo hasta que a finales de 2004 se consiguió el acceso de toda la población diana de la Comunidad Autónoma, que es superior a 650.000 mujeres. La metodología utilizada es la siguiente:

- Población diana: Las Unidades que iniciaron el Programa en 1995 tienen como población diana las mujeres residentes en estas, con edades comprendidas entre 45 y 65 años, al igual que lo hicieran las primeras Comunidades Autónomas que pusieron en marcha estos programas poblacionales en España (Navarra). A partir de 1996 se optó por incluir como población diana las mujeres de 50 a 65 años, franja de máxima eficacia del programa según las recomendaciones del Grupo de Expertos Europa contra el Cáncer. En el año 2006, una vez incluidas todas las mujeres hasta los 65 años, se decidió aumentar de forma progresiva hasta los 69 años.

- Citación: La citación es personalizada, por carta. Con motivo de aumentar la tasa de captación, existe una recitación de aquellas mujeres que no acuden tras la primera citación.
- Aplicación informática específica (D.C.M.©): El software se ha instalado en todas las unidades y se encarga de: emisión de cartas, almacenamiento de informes y explotación de información. Así mismo, se ha instalado en los hospitales de referencia para facilitar la recogida de la información de los tumores detectados.
- Realización de estudio mamográfico: Se realiza mamografía bilateral con doble proyección, cráneo-caudal (CC) y oblicua medio-lateral (OML), tanto en la primera vuelta como en sucesivas, con periodicidad bienal.
- Lecturas mamográficas: Se realiza doble lectura independiente y no consensuada de las mamografías, derivando al hospital aquellas mujeres que necesitan pruebas complementarias (BIRADS 3, 4 y 5). En pacientes de primera vuelta y con categoría BIRADS 3 existe la posibilidad de recomendar seguimiento a los 6 meses o derivar al hospital. En caso de discordancia en la actitud tras la valoración por los dos radiólogos, se lleva a cabo la actitud más intervencionista establecida por ellos.

Los datos del Programa de Detección Precoz del CM en nuestra Comunidad Autónoma a 31 de diciembre de 2013 reflejan una accesibilidad al Programa de las mujeres andaluzas del 100% entre 50-69 años

- Mujeres que acuden: La tasa de captación global, o porcentaje de mujeres que acuden de todas las citadas, es del 80,3%.
- Mujeres derivadas al hospital: La tasa de derivación global, o porcentaje de mujeres derivadas al hospital para completar el estudio es de 14%.
- Tumores detectados: La tasa de detección acumulada es de 6/1000 mujeres exploradas. Se han detectado 3.685 cánceres en el programa hasta la fecha citada.
- Características de los tumores detectados: El tamaño tumoral y la afectación ganglionar constituyen factores pronósticos muy importantes. El 69,1% de los carcinomas

diagnosticados en el programa de detección precoz, miden menos de 2 cm. Así mismo en un 71% de los cánceres conocidos, no se demostró afectación ganglionar.

### **1.2.5 Características patológicas de los tumores detectados en programas de cribado.**

Es bien conocido que los CM detectados en los programas de cribado con más frecuencia son de menor tamaño y de un estadio más precoz que los diagnosticados clínicamente. El estudio de otros marcadores inmunohistoquímicos se ha realizado con menor frecuencia, aunque existen datos indirectos que indican que los carcinomas detectados en programas de cribado poseen características biológicas diferentes, ya que muestran una mejor supervivencia cuando se comparan con los detectados clínicamente del mismo estadio. Así, algunas series han publicado que los carcinomas procedentes de cribado son más frecuentemente positivos para RE y RP, muestran menor índice de proliferación, menos frecuencia de positividad para HER2 y fenotipos moleculares asociados a buen pronóstico.

# OBJETIVOS

## 2. OBJETIVOS

1. Determinar las características clínico-patológicas de los carcinomas infiltrantes de mama diagnosticados y/o tratados en el área hospitalaria H.U. Virgen del Rocío durante los años 2006 a 2009.
2. Determinar las características histopatológicas de los carcinomas de mama estratificados por rango de edad.
3. Determinar si las características histopatológicas difieren entre los tumores detectados en el programa de detección de cáncer de mama y los carcinomas sintomáticos.
4. Determinar las frecuencias de los subtipos histológicos y moleculares subrogados (Luminal A y B, HER2 positivo y basal) en los tumores detectados en el programa de detección de cáncer de mama y compararlas con las detectadas en los carcinomas de mama sintomáticos.
5. Determinar el pronóstico en términos de supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global asociada a tumor de ambos grupos y determinar si existieran diferencias entre los tumores detectados en el programa de detección de cáncer de mama y los carcinomas sintomáticos.

# MATERIALES Y MÉTODOS

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 SELECCIÓN DE PACIENTES

La serie comprende todos los CM infiltrantes diagnosticados y/o tratados en el H.U. Virgen del Rocío durante los años 2006 a 2009, obtenidos de listados retrospectivos del sistema de información de la UGC de Anatomía Patológica, siguiendo los procedimientos establecidos en la ley actual de Investigación Orgánica Biomédica de 4 de julio de 2007, el Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre, por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y del tratamiento de las muestras biológicas de origen humano, y se regula el funcionamiento y organización del Registro Nacional de Biobancos para investigación biomédica, así como, en su caso, la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal, y la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, en lo que resulte de aplicación, y a llevar a cabo las actividades de investigación respetando en todo caso las medidas de precaución necesarias. La pertenencia o no al PDP, se obtuvo de las bases de datos del PDP-CM (aplicación informática específica, D.C.M.). Se excluyeron los carcinomas de intervalo y las recidivas. No se excluyeron los carcinomas diagnosticados en la primera ronda del programa de cribado (casos prevalentes).

##### 3.1.1 Características clínico-patológicas y de seguimiento clínico

La edad, tamaño, presencia de metástasis ganglionares, invasión vascular, estadio, tipo histológico y grado histológico se recogieron de los informes de Anatomía Patológica. Así mismo, se recogieron los datos inmunohistoquímicos (IHQ) tales como RE, RP, Ki67 y HER2.

Con respecto a los datos relacionados con la presencia o no de recidiva local (presencia de tumor en el tejido mamario remanente, piel, pared costal o ganglios axilares ipsilaterales) o a distancia, tiempos medios de seguimiento, y tiempos hasta el *exitus*, global y asociados a tumor, se obtuvieron de los sistemas de información del H.U. Virgen del Rocío

disponibles en la historia clínica digital. El inicio de recogida de datos fue el 31 de octubre de 2015. El máximo plazo de seguimiento se estableció el 31 de diciembre de 2016.

#### 3.1.2 Selección de las muestras de estudio

Todos los casos correspondían a tejido mamario tumoral perteneciente a las piezas de resección quirúrgica, fijadas en formol tamponado al 4% e incluidas en bloques de parafina para su procesado y conservación. Se descartaron todos aquellos casos en los que el tejido del que se disponía correspondía a la biopsia diagnóstica o en los que se preveía o bien que no habría excedente para realizar pruebas diagnósticas/pronósticas en el futuro y/o no habría suficiente tejido para incluir en las matrices de tejido.

Se revisaron todas las laminillas correspondientes a cada uno de los casos, reclasificando distintas variables histopatológicas tales como tipo histológico (de acuerdo con la última edición de la OMS) (1), grado histológico (según el método de Nottingham) (20) presencia o ausencia de invasión vascular o afectación de piel.

#### 3.1.3 Manejo de las muestras y construcción de matrices de tejido

Los bloques de parafina se seccionaron en un Microtomo RM2255 (Leica) a un grosor de 4  $\mu$ m para la valoración histológica por hematoxilina-eosina (H-E) y la selección del bloque más representativo para la posterior construcción de las matrices de tejido (TMA). Tras la evaluación histológica de cada bloque de parafina elegido de cada caso, se seleccionaron al menos dos áreas representativas y se extrajeron cilindros de tejido de 1mm de diámetro y al menos 2 mm de profundidad. Éstos fueron posteriormente colocados de manera ordenada en un nuevo bloque de parafina utilizando un Manual Tissue Arrayer (MTA, Beecher Instruments). El bloque resultante es una matriz que contiene 80-100 cilindros provenientes de los distintos casos, por duplicado. Así mismo, cada bloque incluía una serie de 3-4 cilindros de casos control que incluían diferentes subtipos tumorales y tejido normal. La presencia de carcinoma infiltrante fue confirmada en secciones de H-E de los TMA.

## 3.2 INMUNOHISTOQUÍMICA Y TÉCNICAS DE HIBRIDACIÓN IN SITU

### 3.2.1 Tratamiento, desparafinación y desenmascaramiento antigénico

La técnica inmunohistoquímica se realizó de forma automatizada utilizando el inmunoteñidor Benchmark de Roche. Brevemente, secciones tisulares de 4  $\mu\text{m}$  de los bloques de parafina se desparafinaron mediante un tampón enzimático a pH7 y rehidrataron. La recuperación antigénica para los distintos anticuerpos utilizados (ver tabla 4) se realizó mediante calor utilizando un tampón (CC1, tris/borato/EDTA) pH 8.4. Posteriormente, las secciones se trataron en una solución acuosa de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peróxido de hidrógeno) al 3% para agotar la actividad peroxidasa endógena. Las secciones se incubaron con los anticuerpos utilizados durante los tiempos indicados por el fabricante. Posteriormente se procedió al lavado con tampón Tris pH 7.6-7.8 y la aplicación de los anticuerpos secundarios conjugados con peroxidasa y el sustrato cromogénico 3,3'-diaminobenzidina para desarrollar la inmunoreactividad, de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Ventana, Roche) (ver método de visualización en tabla 4). Las secciones se contratiñeron con hematoxilina y se montaron en DPX (BDH Laboratories).

### 3.2.2 Hibridación in situ fluorescente (FISH)

Se realizaron cortes histológicos de tejidos incluidos en parafina a 3  $\mu\text{m}$  en portaobjetos silanizados. Posteriormente se desparafinaron e hidrataron en alcoholes de concentraciones decrecientes y se realizó una recuperación antigénica con tampón citrato a pH6. Se co-desnaturalizaron los tejidos pre-tratados con proteinasa K y la sonda fluorescente (Pathvision HER2-DNA probe kit, Abbot Molecular) a 90°C durante 5 minutos y se dejaron hibridar durante toda la noche a 37°C. Después de la hibridación los portaobjetos se lavaron en una solución SSC 2x/Tween20, se contratiñeron los núcleos con DAPI II (Vysis) y se visualizaron los resultados en un microscopio de fluorescencia equipado con los filtros apropiados y una cámara digital (Leica).

### 3.2.3 Evaluación de marcadores inmunohistoquímicos y FISH

Todos los marcadores inmunohistoquímicos fueron evaluados por dos patólogos de forma independiente, comprobando la expresión adecuada en controles externos y/o internos, y en los casos de desacuerdo se revisaban en común. En el caso de RE y RP se realizó siguiendo las recomendaciones de las guías internacionales (55), considerándose positivo un límite del 1%. En el caso del RA la evaluación fue similar. Se evaluó tanto el porcentaje de células que mostraban positividad nuclear para estos marcadores como la intensidad de la expresión. De esta manera se han recogido tanto porcentajes medios de expresión como el valor que se asignaba mediante el método Allred. Este método asigna un valor numérico del 0 al 8 producto de la suma del valor asignado al porcentaje de expresión del marcador (0: 0% de células positivas, 1: <1% de células positivas, 2: 1-10% de células positivas, 3: 11-25% de células positivas, 4: 26-75% de células positivas, 5: 76-100% de células positivas) y a la intensidad de expresión (0: ausencia de expresión, 1: expresión ligera, 2: expresión moderada, 3: expresión intensa). Se ha considerado que un tumor es negativo para RH si muestra un porcentaje de expresión < al 1% y/o un Allred  $\leq 2$  (ver figura 4).

FIGURA 4. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL MÉTODO SEMICUANTITATIVO DE ALLRED

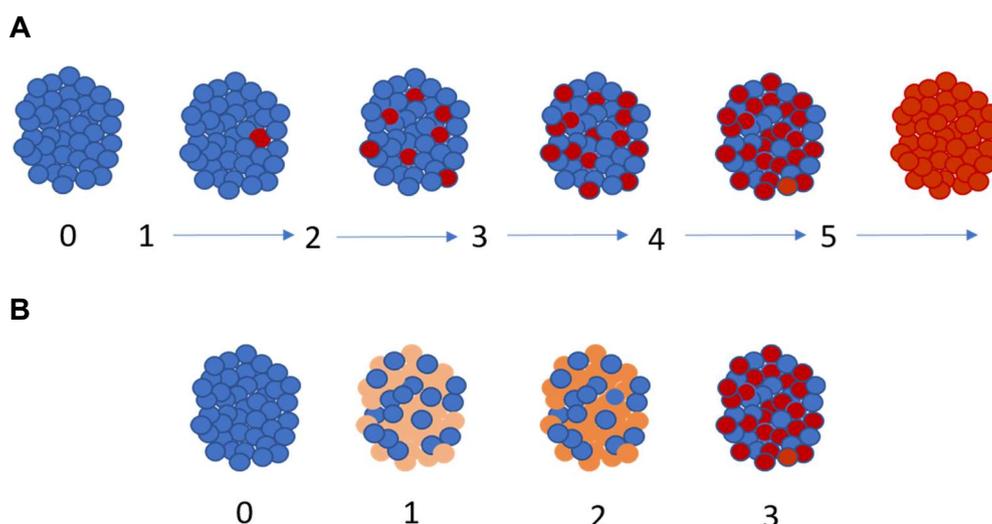


Figura 4. **A.** % de células positivas **B.** Intensidad de expresión.

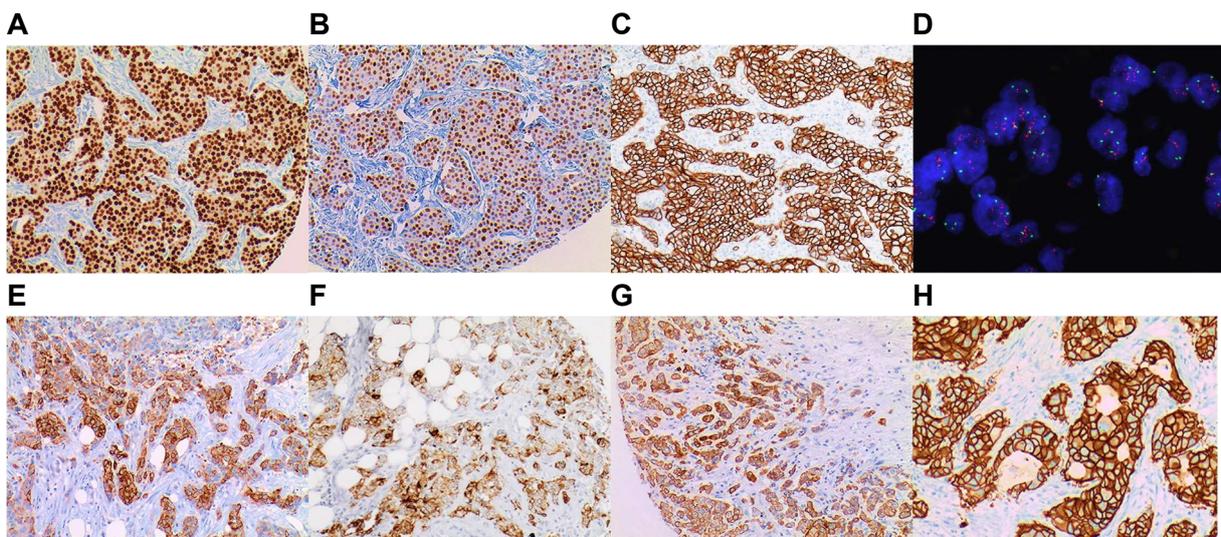
Con respecto al índice proliferativo ki67, se ha considerado cualquier intensidad de expresión nuclear, estimándose el porcentaje de células positivas (31).

Para la evaluación de HER2 se han seguido, así mismo, las guías internacionales (56), considerándose un HER2 0 la ausencia de inmunotinción, HER2 1+: expresión de membrana débil/casi imperceptible y parcial en más del 10% de las células neoplásicas, HER 2+: expresión de membrana completa débil o moderada en más del 10% de las células neoplásicas y HER2 3+: expresión de membrana completa e intensa en más del 10% de las células neoplásicas.

Las citoqueratinas basales (CK5/6, CK14 y CK17) y el EGFR se consideraron positivos si se observaba cualquier nivel de expresión (débil o intenso), en membrana y/o citoplasma, en al menos el 20% de las células tumorales.

La ausencia completa de cadherina E o expresiones aberrantes de la misma en un contexto morfológico característico, se usó para el diagnóstico de carcinomas lobulillares y la expresión del antígeno de membrana epitelial (EMA) en un patrón invertido, para diagnosticar el carcinoma micropapilar.

**FIGURA 5. REPRESENTACIÓN DE BIOMARCADORES EN CÁNCER DE MAMA Y ALGUNOS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS Y TÉCNICAS DE HIBRIDACIÓN IN SITU UTILIZADOS**



**Figura 5. Microfotografías representativas de distintos marcadores inmunohistoquímicos y técnicas de hibridación in situ utilizadas A. RE, B. RP, C. HER2 mediante IHQ, D. HER2 mediante técnicas de FISH, E. CK5/6, F. CK14, G. CK17, H. EGFR**

Para la interpretación de la FISH de HER2 se contaron al menos 20 células, que no estuvieran superpuestas y se consideró un caso como amplificado cuando: el ratio fue  $HER2/CEN17 \geq 2$  independientemente del número de señales por núcleo o  $HER2/CEN17 < 2$  con un número de copias de  $HER2 \geq 6$  señales por núcleo (56).

En la serie se han considerado HER2 positivos los casos HER2 3+ por técnicas inmunohistoquímicas y/o los casos amplificados por FISH.

### 3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Como primer paso, se aplicó a la información de las muestras continuas un test de normalidad para analizar su distribución, y con base en ello se eligieron los correspondientes test estadísticos. Para evaluar las diferencias encontradas en los resultados inmunohistoquímicos, así como en las características clínico- patológicas y biológicas entre los carcinomas diagnosticados en el PDP-CM y los carcinomas esporádicos se establecieron tablas de contingencia donde se estimó la significación con el test Chi cuadrado de Pearson. Para comparar las medias de tamaño entre grupos se utilizaron los test de U de Mann Whitney y Kruskal Wallis. Para el estudio de supervivencia global o para establecer el tiempo libre de enfermedad tanto por recidiva local como a distancia se realizaron curvas de Kaplan-Meier, utilizando el test del log-rank para ver diferencias significativas entre los distintos grupos. Para establecer el riesgo asociado a cada una de las variables se utilizó el modelo de regresión de Cox. Todos los análisis se realizaron utilizando el software SPSS 17.0 (IBM). La significación se consideró para un valor de probabilidad  $P < 0,05$ .

TABLA 4. ANTICUERPOS UTILIZADOS PARA INMUNOHISTOQUÍMICA Y CONDICIONES

Marcador	Anticuerpo	Casa comercial	Método de visualización	Concentración
RE	Anti- ER (SP1) Rabbit Monoclonal	Roche	Ultraview	Prediluido
RP	Anti-PR (1E2) Rabbit Monoclonal	Roche	Ultraview	Prediluido
Ki67	Anti-ki67 (30-9) Rabbit Monoclonal	Roche	Ultraview	Prediluido
HER2	Pathway anti-HER-2 (4B5) Rabbit Monoclonal	Roche	Ultraview	Prediluido
CK5/6	Anti-Cytokeratin 5/6 (D5/16B4) Mouse Monoclonal	Roche	Optiview	Prediluido
CK14	Anti-Cytokeratin 14 (LL002) Rabbit Monoclonal	Roche	Optiview	Prediluido
CK17	Anti-Cytokeratin 17 (SP95) Rabbit Monoclonal	Roche	Optiview	Prediluido
EGFR	Anti-Epidermal Growth Factor Receptor (3C6) Mouse	Roche	Optiview	Prediluido
RA	Anti-Androgen Receptor (SP107) Rabbit	Roche	Optiview	Prediluido
EMA	Anti-EMA (E29) Mouse monoclonal	Roche	Optiview	Prediluido
Cadherina E	Anti-E-cadherin (36) Mouse monoclonal	Roche	Optiview	Prediluido

## REFERENCIAS

## REFERENCIAS

1. Lakhani SR EI, Schnitt SJ, Hoon Tan P, van de Vijver MJ., editor. WHO Classification of Tumours of the Breast. 4th ed. Lyon: IARC; 2012.
2. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000 Aug 17;406(6797):747-52.
3. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Sep 11;98(19):10869-74.
4. Parker JS, Mullins M, Cheang MC, Leung S, Voduc D, Vickery T, et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *J Clin Oncol*. 2009 Mar 10;27(8):1160-7.
5. Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, Ibrahim N, Cristofanilli M, Anderson K, et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res*. 2005 Aug 15;11(16):5678-85.
6. van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature*. 2002 Jan 31;415(6871):530-6.
7. Hu Z, Fan C, Oh DS, Marron JS, He X, Qaqish BF, et al. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. *BMC Genomics*. 2006 Apr 27;7:96.
8. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2012 Oct 4;490(7418):61-70.
9. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2004 Aug 15;10(16):5367-74.
10. Cheang MC, Voduc D, Bajdik C, Leung S, McKinney S, Chia SK, et al. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. *Clin Cancer Res*. 2008 Mar 1;14(5):1368-76.
11. Won JR, Gao D, Chow C, Cheng J, Lau SY, Ellis MJ, et al. A survey of immunohistochemical biomarkers for basal-like breast cancer against a gene expression profile gold standard. *Mod Pathol*. 2013 Nov;26(11):1438-50.
12. Prat A, Lluch A, Albanell J, Barry WT, Fan C, Chacon JI, et al. Predicting response and survival in chemotherapy-treated triple-negative breast cancer. *Br J Cancer*. 2014 Oct 14;111(8):1532-41.
13. Bastien RR, Rodriguez-Lescure A, Ebbert MT, Prat A, Munarriz B, Rowe L, et al. PAM50 breast cancer subtyping by RT-qPCR and concordance with standard clinical molecular markers. *BMC Med Genomics*. 2012 Oct 4;5:44.

14. Cheang MC, Martin M, Nielsen TO, Prat A, Voduc D, Rodriguez-Lescure A, et al. Defining breast cancer intrinsic subtypes by quantitative receptor expression. *Oncologist*. 2015 May;20(5):474-82.
15. 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.
16. Lehmann BD, Jovanovic B, Chen X, Estrada MV, Johnson KN, Shyr Y, et al. Refinement of Triple-Negative Breast Cancer Molecular Subtypes: Implications for Neoadjuvant Chemotherapy Selection. *PLoS One*. 2016;11(6):e0157368.
17. Santonja A, Sanchez-Munoz A, Lluch A, Chica-Parrado MR, Albanell J, Chacon JI, et al. Triple negative breast cancer subtypes and pathologic complete response rate to neoadjuvant chemotherapy. *Oncotarget*. 2018 May 29;9(41):26406-16.
18. Amin MB, editor. *AJCC Cancer Staging Manual 8th edition*. 8th ed. Chicago: Springer; 2017.
19. 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.
20. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991 Nov;19(5):403-10.
21. Manni A, Arafah B, Pearson OH. Estrogen and progesterone receptors in the prediction of response of breast cancer to endocrine therapy. *Cancer*. 1980 Dec 15;46(12 Suppl):2838-41.
22. Purdie CA, Quinlan P, Jordan LB, Ashfield A, Ogston S, Dewar JA, et al. Progesterone receptor expression is an independent prognostic variable in early breast cancer: a population-based study. *Br J Cancer*. 2014 Feb 4;110(3):565-72.
23. 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.
24. Prat A, Cheang MC, Martin M, Parker JS, Carrasco E, Caballero R, et al. Prognostic significance of progesterone receptor-positive tumor cells within immunohistochemically defined luminal A breast cancer. *J Clin Oncol*. 2013 Jan 10;31(2):203-9.
25. Saphner T, Tormey DC, Gray R. Annual hazard rates of recurrence for breast cancer after primary therapy. *J Clin Oncol*. 1996 Oct;14(10):2738-46.
26. Yi M, Huo L, Koenig KB, Mittendorf EA, Meric-Bernstam F, Kuerer HM, et al. Which threshold for ER positivity? a retrospective study based on 9639 patients. *Ann Oncol*. 2014 May;25(5):1004-11.

27. Davies C, Godwin J, Gray R, Clarke M, Cutter D, Darby S, et al. Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient-level meta-analysis of randomised trials. *Lancet*. 2011 Aug 27;378(9793):771-84.
28. Colleoni M, Viale G, Zahrieh D, Pruneri G, Gentilini O, Veronesi P, et al. Chemotherapy is more effective in patients with breast cancer not expressing steroid hormone receptors: a study of preoperative treatment. *Clin Cancer Res*. 2004 Oct 1;10(19):6622-8.
29. 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.
30. Prat A, Fan C, Fernandez A, Hoadley KA, Martinello R, Vidal M, et al. Response and survival of breast cancer intrinsic subtypes following multi-agent neoadjuvant chemotherapy. *BMC Med*. 2015 Dec 18;13:303.
31. Polley MY, Leung SC, McShane LM, Gao D, Hugh JC, Mastropasqua MG, et al. An international Ki67 reproducibility study. *J Natl Cancer Inst*. 2013 Dec 18;105(24):1897-906.
32. Klauschen F, Wienert S, Schmitt WD, Loibl S, Gerber B, Blohmer JU, et al. Standardized Ki67 Diagnostics Using Automated Scoring--Clinical Validation in the GeparTrio Breast Cancer Study. *Clin Cancer Res*. 2015 Aug 15;21(16):3651-7.
33. Harris LN, Ismaila N, McShane LM, Andre F, Collyar DE, Gonzalez-Angulo AM, et al. Use of Biomarkers to Guide Decisions on Adjuvant Systemic Therapy for Women With Early-Stage Invasive Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol*. 2016 Apr 1;34(10):1134-50.
34. Sestak I, Cuzick J, Dowsett M, Lopez-Knowles E, Filipits M, Dubsy P, et al. Prediction of late distant recurrence after 5 years of endocrine treatment: a combined analysis of patients from the Austrian breast and colorectal cancer study group 8 and arimidex, tamoxifen alone or in combination randomized trials using the PAM50 risk of recurrence score. *J Clin Oncol*. 2015 Mar 10;33(8):916-22.
35. Sheri A, Smith IE, Johnston SR, A'Hern R, Nerurkar A, Jones RL, et al. Residual proliferative cancer burden to predict long-term outcome following neoadjuvant chemotherapy. *Ann Oncol*. 2015 Jan;26(1):75-80.
36. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thurlimann B, Senn HJ. Strategies for subtypes--dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol*. 2011 Aug;22(8):1736-47.
37. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thurlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol*. 2013 Sep;24(9):2206-23.

38. Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, Gelber RD, Gnant M, Piccart-Gebhart M, 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.
39. Curigliano G, Burstein HJ, E PW, Gnant M, Dubsy P, Loibl S, et al. De-escalating and escalating treatments for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Expert Consensus Conference on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017. *Ann Oncol*. 2017 Aug 1;28(8):1700-12.
40. Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2009 May 20;101(10):736-50.
41. 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.
42. Shapiro S. Screening: assessment of current studies. *Cancer*. 1994 Jul 1;74(1 Suppl):231-8.
43. Tabar L, Fagerberg CJ, Gad A, Baldetorp L, Holmberg LH, Grontoft O, et al. Reduction in mortality from breast cancer after mass screening with mammography. Randomised trial from the Breast Cancer Screening Working Group of the Swedish National Board of Health and Welfare. *Lancet*. 1985 Apr 13;1(8433):829-32.
44. Gotzsche PC, Olsen O. Is screening for breast cancer with mammography justifiable? *Lancet*. 2000 Jan 8;355(9198):129-34.
45. Olsen O, Gotzsche PC. Cochrane review on screening for breast cancer with mammography. *Lancet*. 2001 Oct 20;358(9290):1340-2.
46. Jorgensen KJ, Keen JD, Gotzsche PC. Is mammographic screening justifiable considering its substantial overdiagnosis rate and minor effect on mortality? *Radiology*. 2011 Sep;260(3):621-7.
47. Gotzsche PC, Nielsen M. Screening for breast cancer with mammography. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009 Oct 7(4):CD001877.
48. Humphrey LL, Helfand M, Chan BK, Woolf SH. Breast cancer screening: a summary of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*. 2002 Sep 3;137(5 Part 1):347-60.
49. Autier P, Boniol M, La Vecchia C, Vatten L, Gavin A, Hery C, et al. Disparities in breast cancer mortality trends between 30 European countries: retrospective trend analysis of WHO mortality database. *BMJ*. 2010 Aug 11;341:c3620.

50. Autier P, Boniol M, Koechlin A, Pizot C. Effectiveness of and overdiagnosis from mammography screening in the Netherlands: population based study. *BMJ*. 2017 Dec 5;359:j5224.
51. Kopans DB, Monsees B, Feig SA. Screening for cancer: when is it valid?--Lessons from the mammography experience. *Radiology*. 2003 Nov;229(2):319-27.
52. Autier P, Boniol M, Middleton R, Dore JF, Hery C, Zheng T, et al. Advanced breast cancer incidence following population-based mammographic screening. *Ann Oncol*. 2011 Aug;22(8):1726-35.
53. Fletcher SW, Elmore JG. Clinical practice. Mammographic screening for breast cancer. *N Engl J Med*. 2003 Apr 24;348(17):1672-80.
54. Paci E. Summary of the evidence of breast cancer service screening outcomes in Europe and first estimate of the benefit and harm balance sheet. *J Med Screen*. 2012;19 Suppl 1:5-13.
55. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, et al. American Society of Clinical Oncology/College Of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2010 Jun 1;28(16):2784-95.
56. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*. 2013 Nov 1;31(31):3997-4013.

**DICTAMEN ÚNICO EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE ANDALUCÍA**

D/Dª: Jose Salas Turrents como secretario/a del CEI de los hospitales universitarios Virgen Macarena-Virgen del Rocío

**CERTIFICA**

Que este Comité ha evaluado la propuesta de (No hay promotor/a asociado/a) para realizar el estudio de investigación titulado:

**TÍTULO DEL ESTUDIO:** CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS E INMUNOHISTOQUÍMICAS DE LOS CARCINOMAS DE MAMA DIAGNOSTICADOS EN PROGRAMAS DE CRIBADO DE CÁNCER DE MAMA  
**Protocolo, Versión:** 1  
**HIP, Versión:**  
**CI, Versión:**

Y que considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y se ajusta a los principios éticos aplicables a este tipo de estudios.

La capacidad del/de la investigador/a y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Están justificados los riesgos y molestias previsibles para los participantes.

Que los aspectos económicos involucrados en el proyecto, no interfieren con respecto a los postulados éticos.

Y que este Comité considera, que dicho estudio puede ser realizado en los Centros de la Comunidad Autónoma de Andalucía que se relacionan, para lo cual corresponde a la Dirección del Centro correspondiente determinar si la capacidad y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Lo que firmo en SEVILLA a 10/04/2015

D/Dª. Jose Salas Turrents, como Secretario/a del CEI de los hospitales universitarios Virgen Macarena-Virgen del Rocío



<b>Código Seguro De Verificación:</b>	cf241064284d6c5ec6a605aed5ce489a4cdc5bcd	<b>Fecha</b>	10/04/2015		
<b>Normativa</b>	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.				
<b>Firmado Por</b>	Jose Salas Turrents				
<b>Url De Verificación</b>	https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/xhtml/ayuda/verificarFirmaDocumento.iframe/code/cf241064284d6c5ec6a605aed5ce489a4cdc5bcd	<b>Página</b>	1/2		

# CERTIFICA

Que este Comité ha ponderado y evaluado en sesión celebrada el 27/03/2015 y recogida en acta 03/2015 la propuesta del/de la Promotor/a (No hay promotor/a asociado/a), para realizar el estudio de investigación titulado:

TÍTULO DEL ESTUDIO: CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS E INMUNOHISTOQUÍMICAS DE LOS CARCINOMAS DE MAMA DIAGNOSTICADOS EN PROGRAMAS DE CRIBADO DE CÁNCER DE MAMA

Protocolo, Versión: 1

HIP, Versión:

CI, Versión:

Que a dicha sesión asistieron los siguientes integrantes del Comité:

**Presidente/a**

D/D<sup>a</sup>. Víctor Sánchez Margalet

**Vicepresidente/a**

D/D<sup>a</sup>. Dolores Jiménez Hernández

**Secretario/a**

D/D<sup>a</sup>. Jose Salas Turrents

**Vocales**

D/D<sup>a</sup>. M Isabel Alvarez Leiva  
D/D<sup>a</sup>. Francisco Javier Bautista Paloma  
D/D<sup>a</sup>. Enrique Calderón Sandubete  
D/D<sup>a</sup>. Amancio Carero Moya  
D/D<sup>a</sup>. Enrique de Álava Casado  
D/D<sup>a</sup>. Juan Manuel García González  
D/D<sup>a</sup>. Antonio Hevia Alonso  
D/D<sup>a</sup>. Juan Ramón Lacalle Remigio  
D/D<sup>a</sup>. M LORENA LOPEZ CERERO  
D/D<sup>a</sup>. Luis Lopez Rodriguez  
D/D<sup>a</sup>. CRISTOBAL MORALES PORTILLO  
D/D<sup>a</sup>. Cristina Pichardo Guerrero  
D/D<sup>a</sup>. Joaquin Quiralte Enriquez  
D/D<sup>a</sup>. Gabriel Ramírez Soto  
D/D<sup>a</sup>. Clara María Rosso Fernández  
D/D<sup>a</sup>. Javier Vitorica Fernandez  
D/D<sup>a</sup>. MARIA EUGENIA ACOSTA MOSQUERA  
D/D<sup>a</sup>. ANGELA CEJUDO LOPEZ  
D/D<sup>a</sup>. Regina Sandra Benavente Cantalejo  
D/D<sup>a</sup>. EVA MARIA DELGADO CUESTA  
D/D<sup>a</sup>. Ana Martínez Rubio  
D/D<sup>a</sup>. Adoración Valiente Mendez

Que dicho Comité, está constituido y actúa de acuerdo con la normativa vigente y las directrices de la Conferencia Internacional de Buena Práctica Clínica.



Lo que firmo en SEVILLA a 10/04/2015

<b>Código Seguro De Verificación:</b>	cf241064284d6c5ec6a605aed5ce489a4cdc5bcd	<b>Fecha</b>	10/04/2015
<b>Normativa</b>	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.		
<b>Firmado Por</b>	Jose Salas Turrents		
<b>Url De Verificación</b>	<a href="https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaleetica/xhtml/ayuda/verificarFirmaDocumento.iface/code/cf241064284d6c5ec6a605aed5ce489a4cdc5bcd">https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaleetica/xhtml/ayuda/verificarFirmaDocumento.iface/code/cf241064284d6c5ec6a605aed5ce489a4cdc5bcd</a>	<b>Página</b>	2/2

