



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

Carcinoma de mama y modificaciones morfológicas postneoadyuvancia. Revisión de un tema muy actual

Breast cancer and postneoadjuvant morphological changes. A review of a current issue

Autor

Luis Fumanal Idocin

Directores

Manuel Moros García

Elaine Mejía Urbáez

Facultad de Medicina

2016

Índice

Abstract/Resumen	2
Introducción.....	3
Material y métodos	3
¿Qué es la quimioterapia neoadyuvante?	4
1. Indicaciones para el tratamiento con Quimioterapia neoadyuvante	4
2. Evaluación inicial de una paciente diagnosticada de cáncer de mama.....	5
3. Opciones terapéuticas.....	6
4. Modificaciones anatomopatológicas en el cáncer de mama postneoadyuvancia	7
4.1 Cambios en el tejido mamario libre de carcinoma	7
4.2 Lecho Tumoral	8
4.3 Ganglios Linfáticos.....	13
5. Evaluación de la respuesta a la quimioterapia neoadyuvante.....	15
5.1 Sistemas de evaluación de la respuesta	17
6. Otras técnicas de valoración de la respuesta	20
7. Otras terapias neoadyuvantes	21
7.1 Hormonoterapia	21
7.2 Ablación por radiofrecuencia.....	21
7.3 Crioablación	22
8. Resultados del tratamiento.....	22
9. Predicción de la respuesta a la neoadyuvancia	23
10. Conclusiones.....	25
Bibliografía	26

Abstract

Background: Both breast cancer and neoadjuvant treatment in general have experienced a fast development over the last three decades. Anatomical Pathology is the gold standard to assess the response to neoadjuvant treatment for this type of cancer. However, none of the methods of assessment currently available has proved to be superior to all others in every aspect. A review of the bibliography about neoadjuvant therapy for breast cancer may help to address this issue among others.

Objective: Gathering the reported effects of neoadjuvant therapy for breast cancer, describing the role of Anatomical Pathology in the assessment of response to neoadjuvant treatment while presenting an update on the latest findings in this field of study.

Method: Bibliographic review. Conclusions and data were retrieved from clinical trials and review articles found in the Pubmed database with no date or language restrictions. Books on the subject and documents from professional associations have also been included.

Results: Extracted from the study of 50 original articles, 2 review articles and 2 books.

Conclusions: Neoadjuvant therapy for breast cancer is an issue with great potential. The current lines of research are aimed at: identifying patients who can benefit from neoadjuvant treatment, reaching consensus about response assessment methods and using less invasive treatments.

Keywords: Neoadjuvant, Chemotherapy, Anatomical Pathology, Breast cancer, Review.

Resumen

Contexto: El tratamiento del cáncer de mama y las terapias neoadyuvantes en general han experimentado un rápido desarrollo en las tres últimas décadas. Para la valoración de la respuesta al tratamiento neoadyuvante de este cáncer se considera como “gold standard” la evaluación de los cambios anatomopatológicos. Sin embargo, ningún método de los disponibles actualmente ha probado ser superior en todos los aspectos. La revisión de la bibliografía sobre la neoadyuvancia en el cáncer de mama puede ayudar a responder esta cuestión entre otras.

Objetivo: Recoger los efectos descritos de la terapia neoadyuvante sobre el cáncer de mama, describir el rol de la Anatomía Patológica en la evaluación de la respuesta al tratamiento neoadyuvante y presentar los últimos hallazgos en este campo.

Método: Revisión bibliográfica. Se extrajeron conclusiones y datos de la revisión de artículos y ensayos clínicos encontrados en la base de datos Pubmed sin restricción de fecha o idioma de publicación. También se han incluido en esta revisión libros sobre la materia y documentos de consenso de asociaciones de profesionales.

Resultados: Son los extraídos tras el estudio de 50 artículos originales, 2 artículos de revisión y 2 libros.

Conclusiones: La neoadyuvancia en el cáncer de mama es un tema con mucho potencial por delante. Las líneas de investigación actuales van encaminadas a: identificar a los pacientes que se pueden beneficiar del tratamiento neoadyuvante, lograr un mayor consenso en los métodos de evaluación de la respuesta y al uso de nuevas técnicas menos invasivas.

Palabras clave: Neoadyuvante, Quimioterapia, Anatomía Patológica, Cáncer de mama, Revisión.

Introducción

El cáncer de mama es una patología nada desconocida para la sociedad. Protagoniza portadas a diario de periódicos, telediarios, vídeos de concienciación en las redes sociales y campañas de ayuda a su investigación. La comunidad científica ha llevado a cabo grandes avances en su detección y tratamiento en las últimas décadas y, sin embargo, las cifras que se manejan a día de hoy provocan que los estudios y ensayos clínicos no dejen de sucederse con mayor o menor fortuna. Aquí se resumen algunos de los datos más relevantes:

El cáncer de mama es el más frecuente en la mujer si se excluyen los de piel de tal forma que según la asociación española contra el cáncer (AECC), aproximadamente 1 de cada 8 mujeres presentará esta enfermedad a lo largo de su vida.

Alrededor de 200.000 casos de carcinoma invasivo de mama son diagnosticados al año en EEUU de los que solamente el 1% son varones. De ese número de casos, 40.000 mueren de la enfermedad. Según la organización de profesionales BreastCancer.org, en 2016 se estima que sean diagnosticados 246.660 nuevos casos de carcinoma infiltrante junto a 61.000 in situ.

En el caso de España, según los datos obtenidos en el proyecto GLOBOCAN de la OMS se diagnosticaron 25.215 nuevos casos en el año 2012 y fallecieron por esta causa 6.075 mujeres. De esta forma, es responsable del 29% de tumores diagnosticados y del 15,5% de las defunciones por neoplasias en la mujer. En la búsqueda de cifras más actuales para nuestro país, al consultar la base de datos del Instituto Nacional de Estadística encontramos que los datos más recientes disponibles corresponden a los de mortalidad del año 2014, en el murieron por esta causa 6.231 mujeres (3,2% del total de defunciones) y 94 varones (0,05% del total de defunciones).

En los últimos 20 años ha crecido la incidencia de este tumor, pero también ha mejorado la supervivencia en un 1,4% cada año, de manera que actualmente en España se ha conseguido una cifra de supervivencia global a los 5 años del diagnóstico del 82,8% según los datos del Eurocare-5, que recoge los datos de supervivencia en pacientes con cáncer en Europa. Esta cifra es superior a la media europea y similar a la de los países con las mejores cifras de supervivencia.

Este fenómeno se debe a que gradualmente disponemos de mayor información para diagnosticar y tratar precozmente el cáncer de mama.

Material y métodos

Diseño: Revisión de libros, documentos, páginas web y artículos científicos sobre el tratamiento neoadyuvante del cáncer de mama.

Estrategia de búsqueda: En primer lugar, se consultó el “Rosen’s Breast Pathology” (4ª edición) para revisar el estado de la evidencia en el tema hasta el año 2013. Posteriormente se examinó Uptodate para actualizar la información con datos obtenidos hasta el año 2015.

La búsqueda de artículos originales se llevó a cabo en Pubmed usando las ecuaciones de búsqueda “((neoadjuvant) AND breast) AND cancer”, “((neoadjuvant[Title/Abstract]) AND breast[Title/Abstract]) AND cancer[Title/Abstract]” sin restricciones en la fecha o idioma. Se revisaron los resúmenes de los artículos y los textos completos en los casos necesarios teniéndose en cuenta todos los que incluían evidencia sobre la neoadyuvancia en el cáncer de mama.

Se revisaron las referencias bibliográficas citadas por los artículos y documentos leídos para comprobar la disponibilidad de nueva evidencia en los campos de estudio de las mismas a través de Pubmed y Google Scholar.

Criterios de inclusión y exclusión: Se han incluido todo tipo de documentos de asociaciones de profesionales, artículos de revisión, ensayos clínicos con independencia de si hallaron resultados significativos o no, datos ofrecidos por instituciones gubernamentales y ONG relacionados con el cáncer de mama. No se excluyó ningún tipo de estudio.

Extracción de datos: De los artículos de los que se han extraído conclusiones o datos se ha revisado el texto completo siempre que ha sido posible el acceso gratuito con el objetivo de comprobar su vigencia y su validez. En el caso de los que no se disponía de texto completo se ha revisado el abstract.

Análisis de los datos: La presentación de los datos se ha llevado a cabo de forma redactada con el objetivo de que su lectura aporte la suficiente información sobre las modificaciones anatomopatológicas causadas por la terapia neoadyuvante como para entender el proceso detrás de un informe anatomopatológico y las implicaciones del mismo. Con el objetivo de facilitar la adquisición de la información, el texto se ha acompañado de 12 imágenes cedidas por el Dr. Manuel Moros García y 6 obtenidas de la bibliografía.

¿Qué es la terapia neoadyuvante?

Es cualquier tratamiento realizado antes de la cirugía. Los tipos de neoadyuvancia más frecuentemente utilizados son la quimioterapia, radioterapia, hormonoterapia y técnicas ablativas como la crioterapia o la ablación térmica inducida por láser entre otras.

En la actualidad la más frecuentemente utilizada tanto en la práctica clínica como en ensayos clínicos es la quimioterapia. Por este motivo es también la técnica de la que más información disponemos en cuanto a efectos sobre el tejido tumoral y por tanto sobre la que versa el grueso del contenido de este trabajo.

El objetivo principal de la terapia neoadyuvante es conseguir una respuesta patológica completa (pCR). La pCR se define como la ausencia total de células carcinomatosas tras el tratamiento neoadyuvante. Este concepto se desarrolla más ampliamente posteriormente.

Entre sus ventajas se encuentran la posibilidad de medir la respuesta in vivo al tratamiento de forma temprana y mejores tasas de conservación de la mama (1). Por otra parte, este tipo de tratamiento requiere la colaboración de oncólogos, ginecólogos, cirujanos, radiólogos y patólogos.

La utilidad de la quimioterapia neoadyuvante en términos de supervivencia es similar a la quimioterapia administrada después de la cirugía según estudios longitudinales como el National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) B18 y B27(2).

1. Indicaciones para el tratamiento con Quimioterapia neoadyuvante

Los pacientes candidatos a recibir quimioterapia neoadyuvante (NATC) son:

- Pacientes elegibles para cirugía primaria: Intento de mejorar el resultado cosmético en pacientes con tumores no tributarios de cirugía conservadora por la localización del tumor o por el ratio Tumor/Mama.

- Pacientes con tumores irresecables: Tumores localmente avanzados (IIIA-IIIC)
- Pacientes con carcinomas inflamatorios.
- Pacientes con subtipos de alta probabilidad de respuesta: HER2 positivo o triple negativo(TN).
- Pacientes con contraindicación para la cirugía en el momento del diagnóstico pero que se espera poder realizar posteriormente. (Ej. Embarazadas)

2. Evaluación inicial de una paciente diagnosticada de cáncer de mama

En cualquier paciente diagnosticado de cáncer de mama se debe obtener:

1. Confirmación histopatológica mediante biopsia que nos permitirá clasificarlo en:

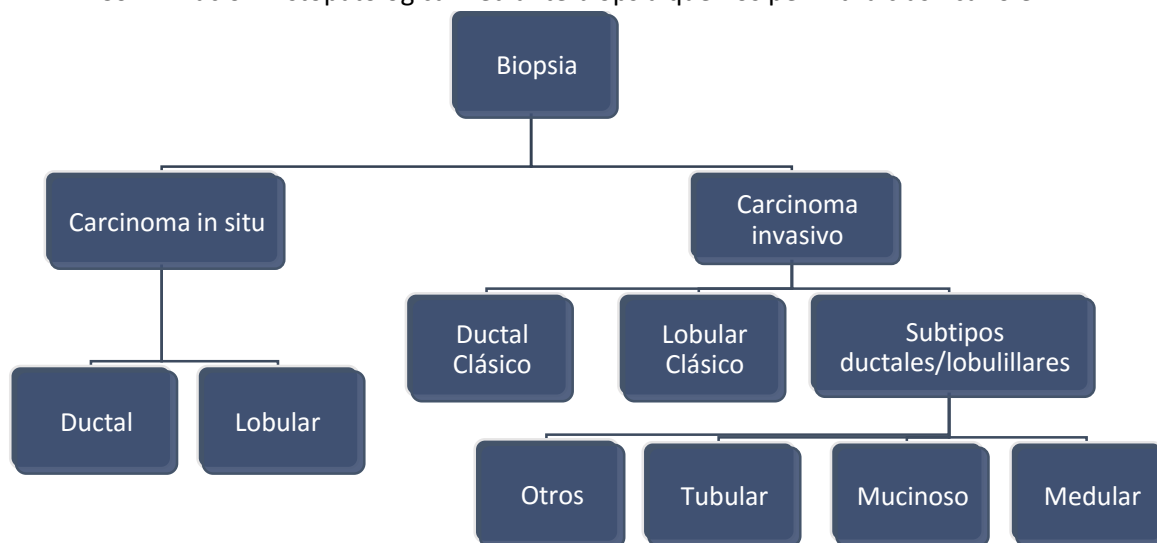


Figura 1 Clasificación histológica de los distintos tipos de carcinoma de mama.

2. Determinación de los receptores de estrógenos (RE), progesterona (RP), receptor 2 de factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) y recuento de Ki67.

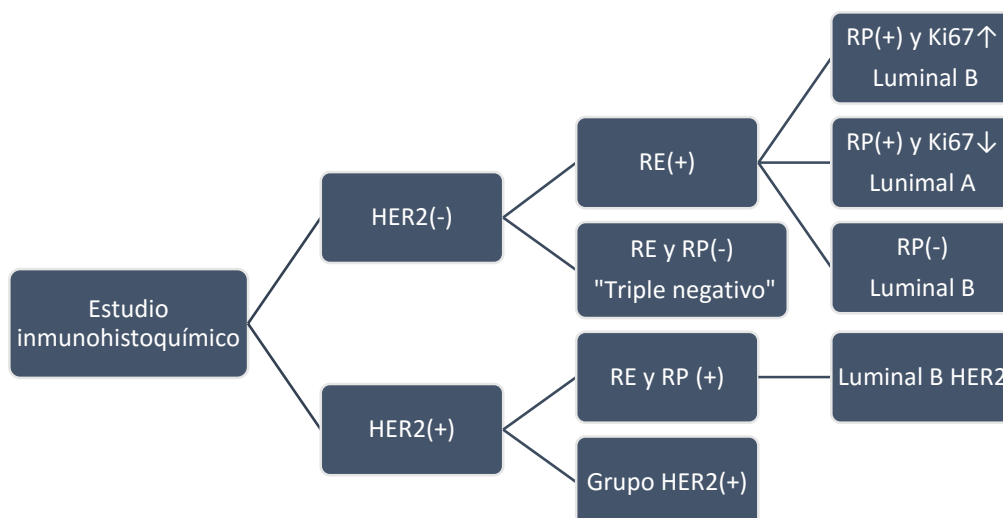


Figura 2 Clasificación inmunohistoquímica de los carcinomas de mama.

3. La actitud respecto a los ganglios regionales se basa en el aspecto clínico de la axila:
- **Axila clínicamente sospechosa:** Pacientes con adenopatías palpables. Se realiza una **punción con aguja fina** guiada por ecografía.
 - Si es positiva, se realizará linfadenectomía (3).
 - Si es negativa, hay que realizar una biopsia de ganglio centinela tras el tratamiento neoadyuvante. Si es positiva se realiza linfadenectomía(4) .
 - **Axila clínicamente no sospechosa:** Se realiza **PET/TC** y se confirma el resultado con anatomía patológica.
 - Si es positivo el tratamiento consiste en linfadenectomía.
 - Si el resultado es negativo se realizará biopsia de ganglio centinela tras la neoadyuvancia. Si sale positivo se hace también linfadenectomía.

Está recomendada la colocación de un clip radiopaco en el lecho tumoral para facilitar la localización del lecho tumoral en el estudio anatomopatológico de la pieza quirúrgica. Se puede realizar a la vez que la biopsia diagnóstica o en cualquier momento antes de la quimioterapia.

3. Opciones terapéuticas

La clasificación inmunohistoquímica del tumor determina el tratamiento que pueden recibir las pacientes y también influye en la posibilidad de obtener una pCR. La opción más extendida es la NATC, aunque en la actualidad se están llevando a cabo varios estudios sobre la terapia biológica. Respecto a la hormonal, los estudios se han realizado de forma predominante sobre mujeres postmenopáusicas.

HER2 negativo:

- Mujeres **postmenopáusicas** con receptor estrogénico (RE) positivo y/o receptor de progesterona positivo (RP), HER2 negativo que no son resecables de forma primaria, se prefiera la NATC sobre la terapia hormonal. Aunque pocos casos conseguirán una pCR la reducción del tumor puede hacerlos resecables o permitir conservación de la mama. Se puede optar también por terapia hormonal y, con independencia de si la declinan o no, pueden recibir la quimioterapia (5).
- Mujeres **premenopáusicas** con RE positivo y/o RP positivo, HER2 negativo que no son candidatas para cirugía primaria pueden optar a NACT. Pocas obtendrán pCR, pero se pueden beneficiar igualmente de la reducción del tumor. Si declinan la NACT se puede optar por cirugía primaria. En caso de que rechazasen ambas se puede ofrecer terapia hormonal pero no se dispone de datos en cuanto a sus beneficios y riesgos.

Triple negativo:

- Pacientes con cáncer triple negativo que no sean candidatas para cirugía o deseen conservación de mama pueden recibir quimioterapia neoadyuvante con una buena probabilidad de conseguir una pCR (6).

HER2 positivo:

- Se recomienda NACT con Trastuzumab en las pacientes que no sean candidatas a cirugía primaria o quieran cirugía conservadora de mama (7).

4. Modificaciones anatomopatológicas en el cáncer de mama postneoadyuvancia

Los cambios morfológicos en el tumor son el resultado de los efectos combinados de los agentes quimioterápicos a los que se añade a veces la radioterapia siendo imposible atribuir los cambios específicos a un agente en concreto (8).

En general, los cambios anatomopatológicos se correlacionan con la respuesta clínica. Los cambios más relevantes en la anatomopatología se encuentran frecuentemente en pacientes con resolución completa de la neoplasia (9). Sin embargo, no es raro encontrar pacientes con una respuesta clínica completa en los que los hallazgos histológicos revelan restos de carcinoma o al revés. En un estudio de 43 pacientes del NSABP B18 que recibieron quimioterapia preoperatoria sólo el 50% mostraron cambios histopatológicos (10).

4.1 Cambios en el tejido mamario libre de carcinoma

La neoadyuvancia en el tejido mamario produce atrofia de las unidades ductolobulillares terminales. De esta manera, las piezas quirúrgicas presentan reducción en el tamaño de los acinos, esclerosis en el lóbulo y atenuación del epitelio ductal. A su vez, esta reducción del epitelio ductal provoca que las células mioepiteliales parezcan más prominentes.

De forma menos habitual también pueden aparecer células epiteliales atípicas en las unidades ductolobulillares terminales. Estas células pueden contener núcleos hipercrómicos y citoplasmas vacuolados sin embargo, no presentan signos de proliferación o actividad mitótica.

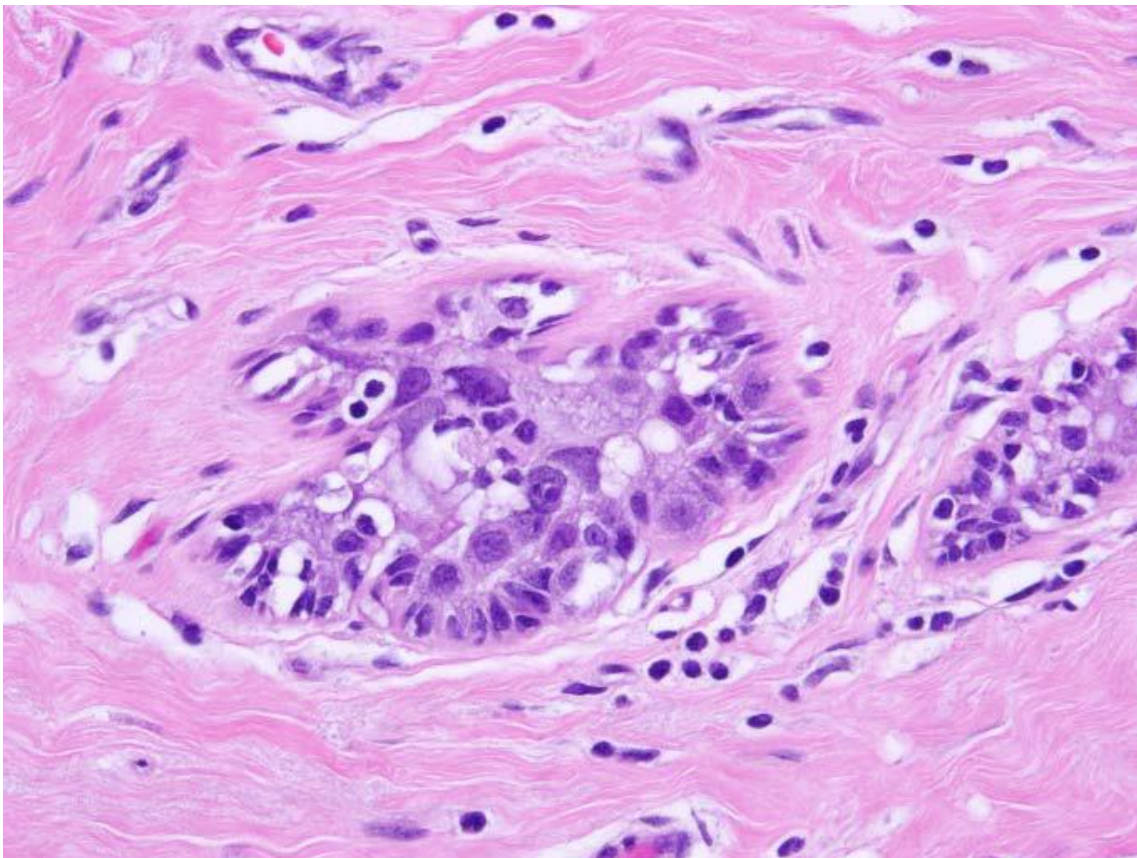


Figura 3 Células epiteliales con núcleos hipercrómicos y citoplasma granular eosinófilo. Imagen obtenida de Fan F. Evaluation and reporting of breast cancer after neoadjuvant chemotherapy. (11).

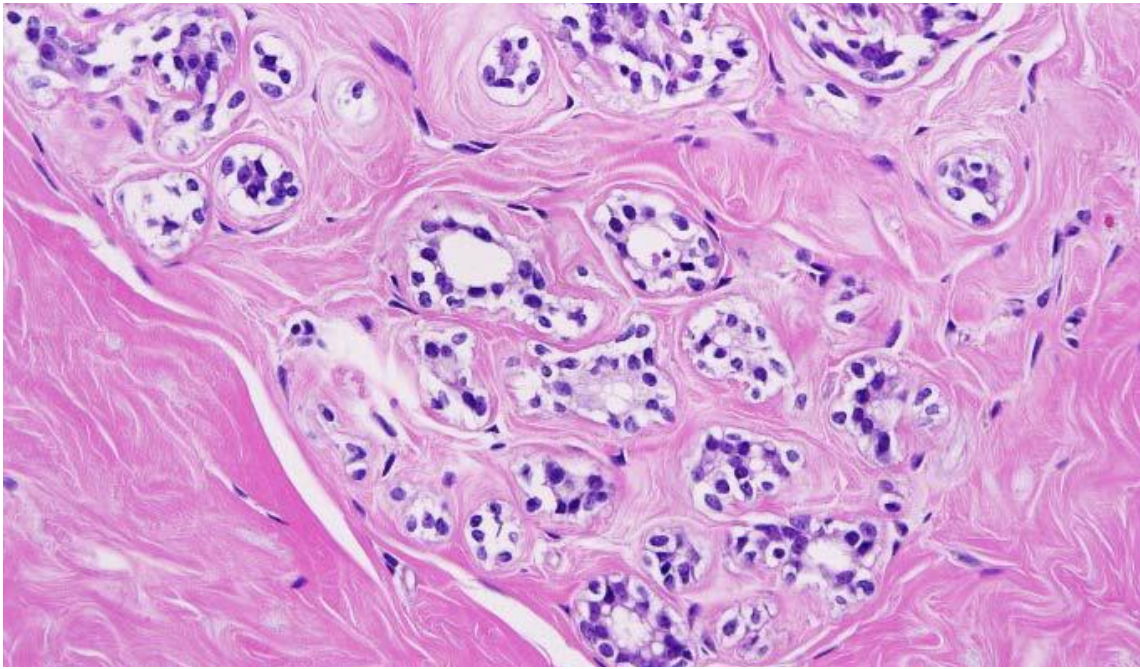


Figura 4 Esclerosis intralobular y atenuación de las células epiteliales (11).

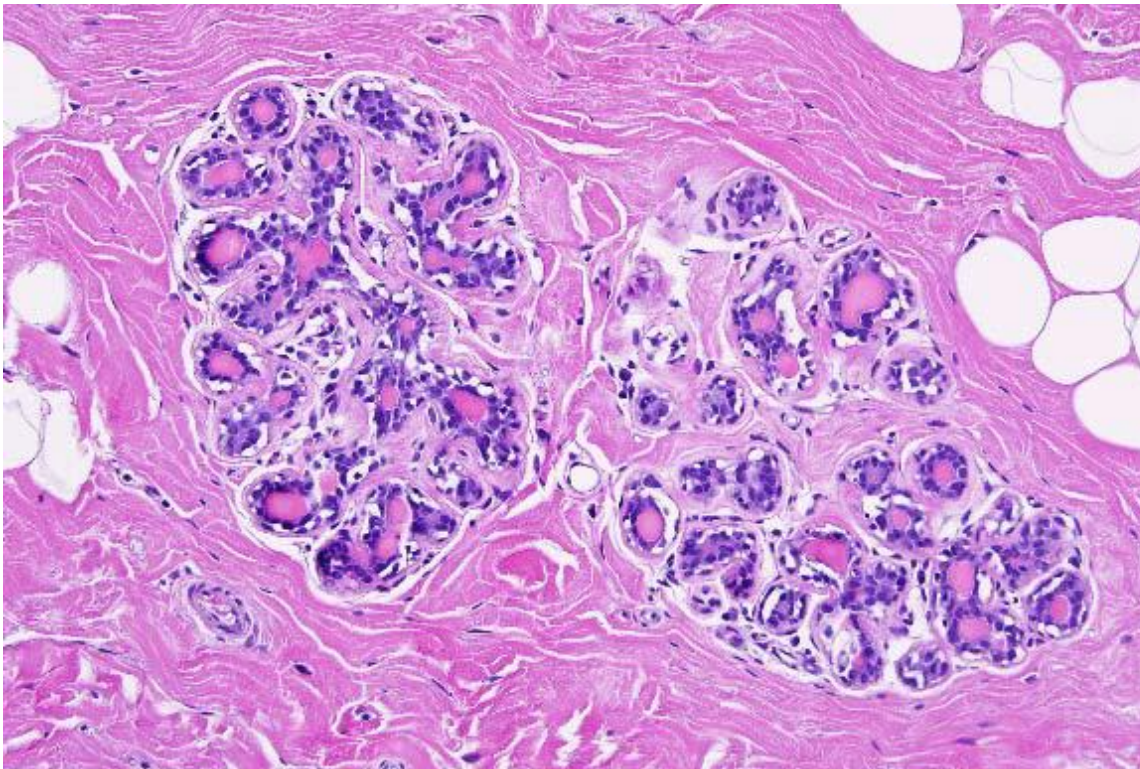


Figura 5 Acinos con signos de atrofia (11).

4.2 Lecho Tumoral

La identificación del lecho tumoral puede ser difícil dependiendo del grado de respuesta. El lugar de toma de la biopsia se puede identificar por presentar macrófagos cargados de pigmento hemosiderínico y cambios cicatriciales.

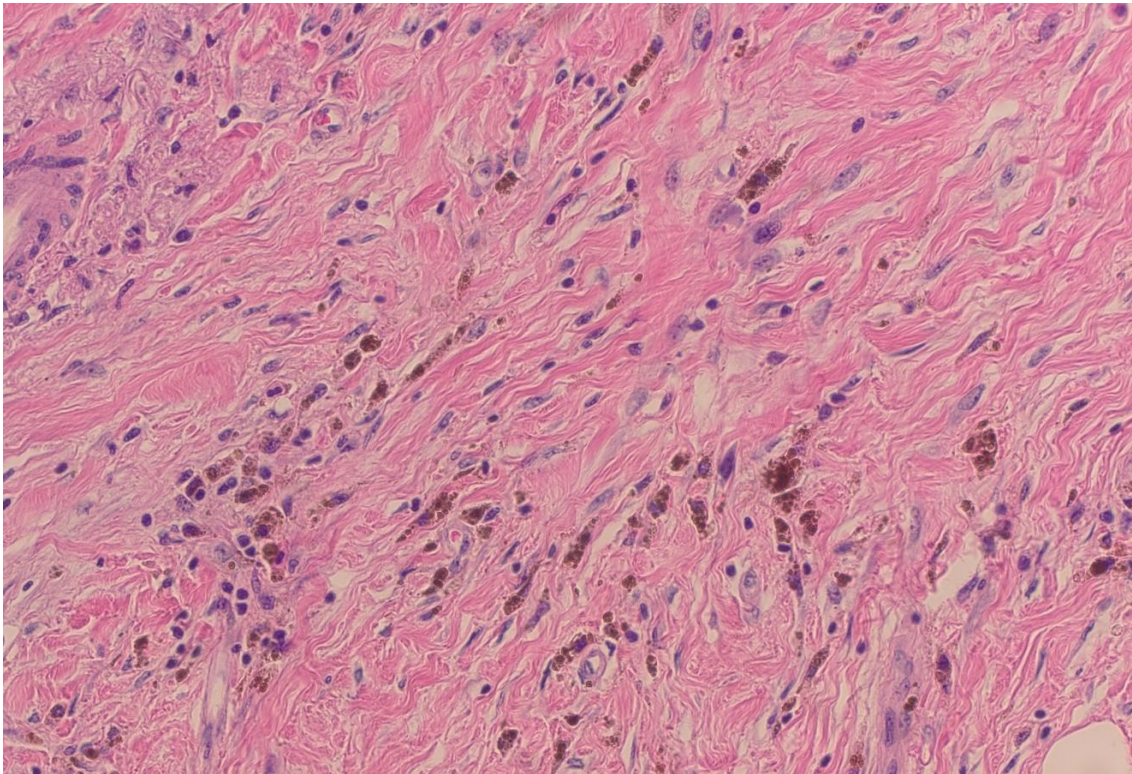


Figura6 6 Zona de toma de la biopsia identificada por la presencia de pigmento hemosiderínico (11).

En teoría, la **respuesta patológica completa** (pCR) es la desaparición de células tumorales en la evaluación histopatológica, pero en la práctica, las definiciones de pCR varían de un estudio a otro. La presencia de carcinoma ductal in situ con ausencia de carcinoma invasor se incluye habitualmente dentro del grupo de pronóstico favorable de pCR. Muchos algoritmos, sin embargo, requieren la ausencia de carcinoma en los nódulos linfáticos junto a la desaparición de tumor invasivo en la mama para clasificar una respuesta como pCR (12).

Los pacientes que obtienen pCR presentan en el estudio histopatológico del lecho tumoral:

- Reducción de la celularidad
- Zonas residuales de carcinoma invasor degenerado y necrótico que se reabsorberá con el tiempo
- Pérdida de sus propiedades de tinción normales
- Deterioro de la arquitectura
- Fibrosis
- Edema en estroma
- Vascularización aumentada a expensas de vasos de paredes delgadas
- Infiltrado de células inflamatorias con histiocitos

Los cambios histopatológicos por la quimioterapia neoadyuvante dificultan la adecuada evaluación de las dimensiones del carcinoma residual. Debido a ello Rajan et al (13) estudiaron la reducción de la celularidad como alternativa a la medición del tamaño del tumor residual. Observó una reducción de la celularidad tumoral de entre un 10% a un 40% en las piezas resecadas comparadas con las biopsias pretratamiento neoadyuvante.

Rasbridge et al (14) hallaron en primer lugar que el efecto de la quimioterapia sobre la proliferación celular cuantificada con Ki67 o tras recuento de mitosis es variable y no se correlaciona con la respuesta patológica. En estudios posteriores, sin embargo, observan una correlación clara (15) .

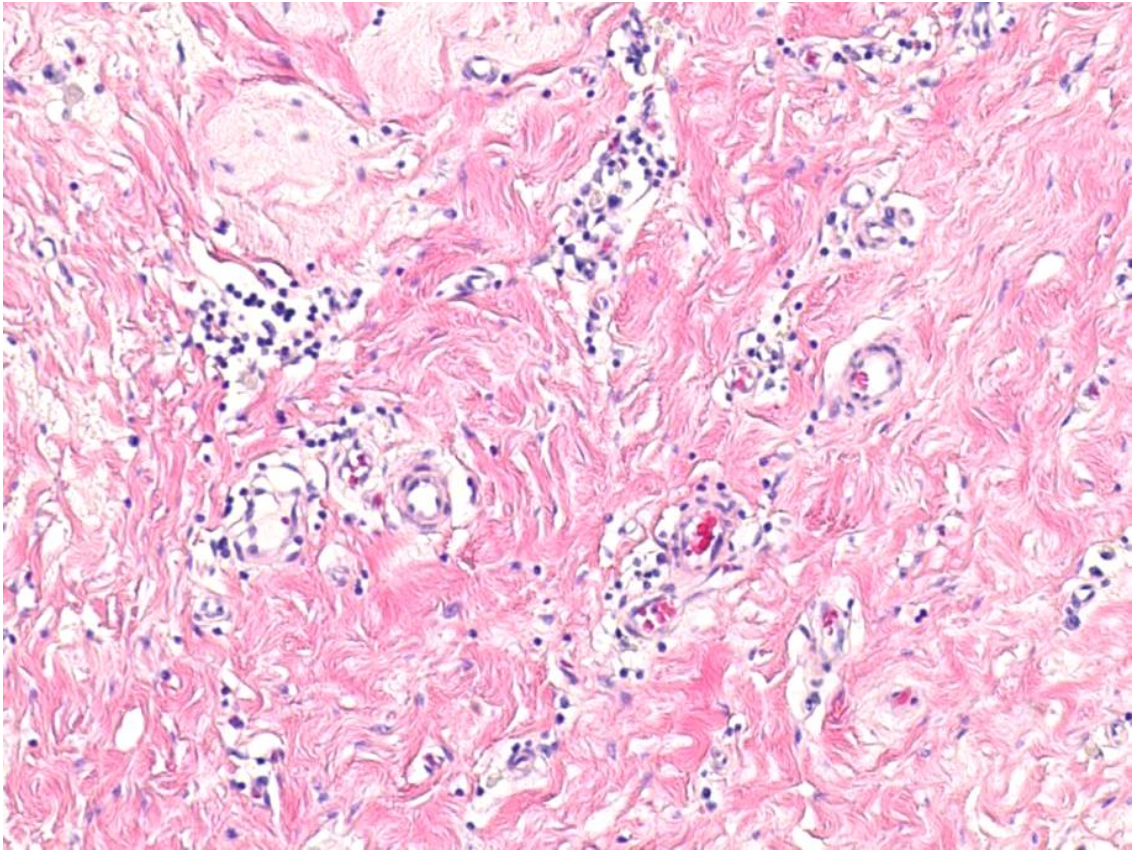


Figura 7 Tejido carente de células carcinomatosas y de glándulas normales con gran predominio de colágeno, capilares sanguíneos e infiltrado linfocitario.

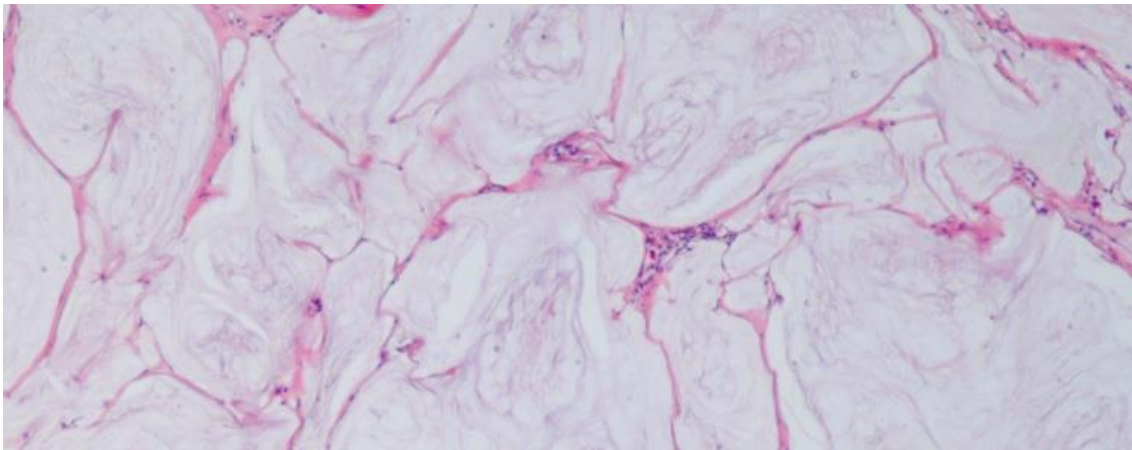


Figura 8 Lagos de mucina sin células carcinomatosas.

Las **células carcinomatosas** residuales pueden parecer morfológicamente inalteradas, pero en los casos respondedores exhiben cambios citológicos tales como:

- Volumen citoplasmático aumentado

- Presencia de vacuolas o gránulos eosinófilos intracitoplasmáticos
- Bordes bien definidos
- Núcleos grandes, hipercromáticos, pleomórficos o incluso pueden aparecer células multinucleadas
- Figuras mitóticas anormales

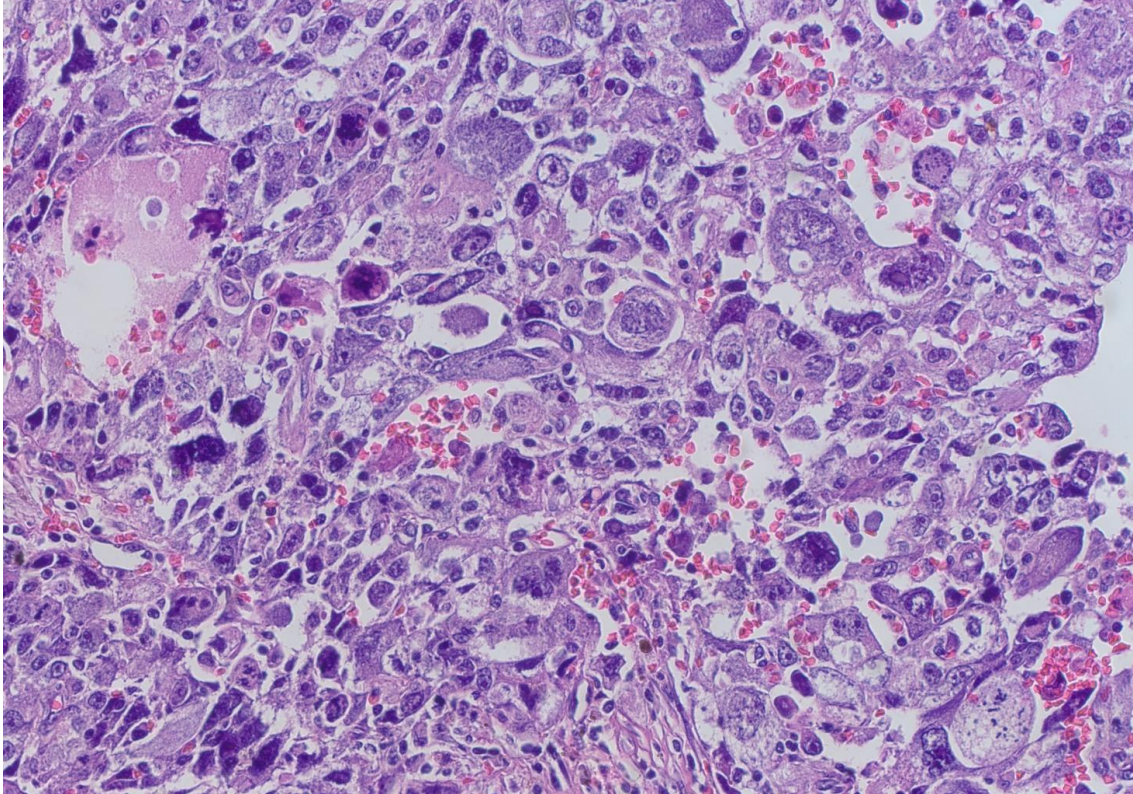


Figura 9 Células con gran pleomorfismo, núcleos grandes e hipercromáticos.

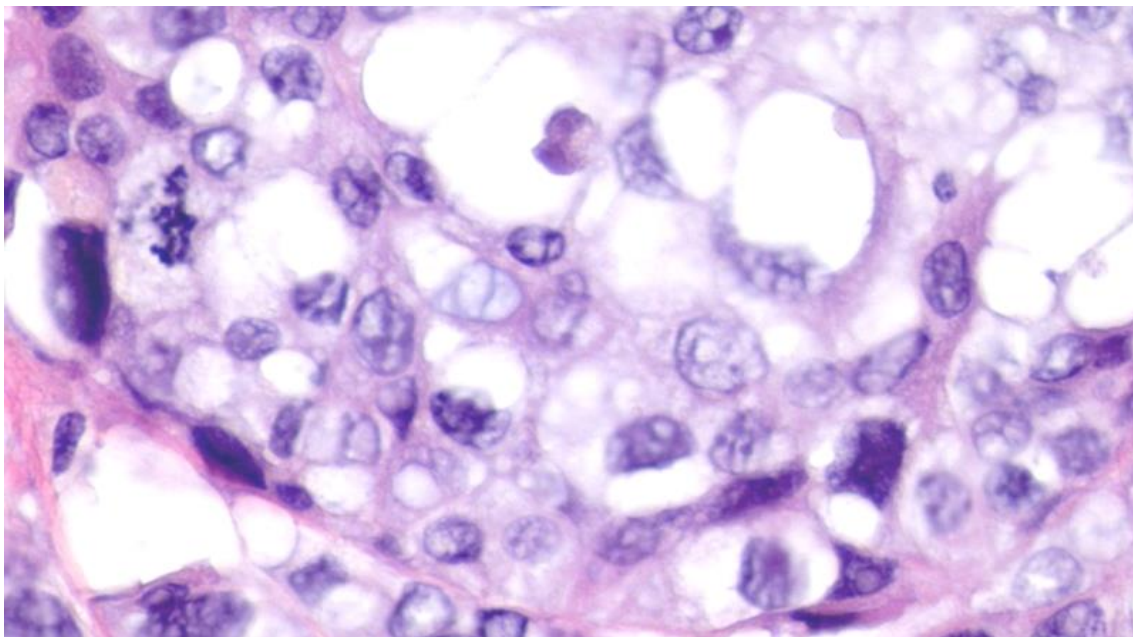


Figura 10 Células aumentadas de tamaño con vacuolas en su interior y gránulos eosinófilos. También se pueden apreciar formas mitóticas anormales.

En ocasiones, estas células carcinomatosas pueden recordar a los histiocitos, pero se diferencian en ser reactivas a la citoqueratina (CK) y al antígeno de membrana epitelial (EMA). Además, en contra de la norma general, las células pueden presentar un tamaño inferior al del pretratamiento. Por estas dos razones, la CK es esencial para la detección de carcinoma invasivo residual.

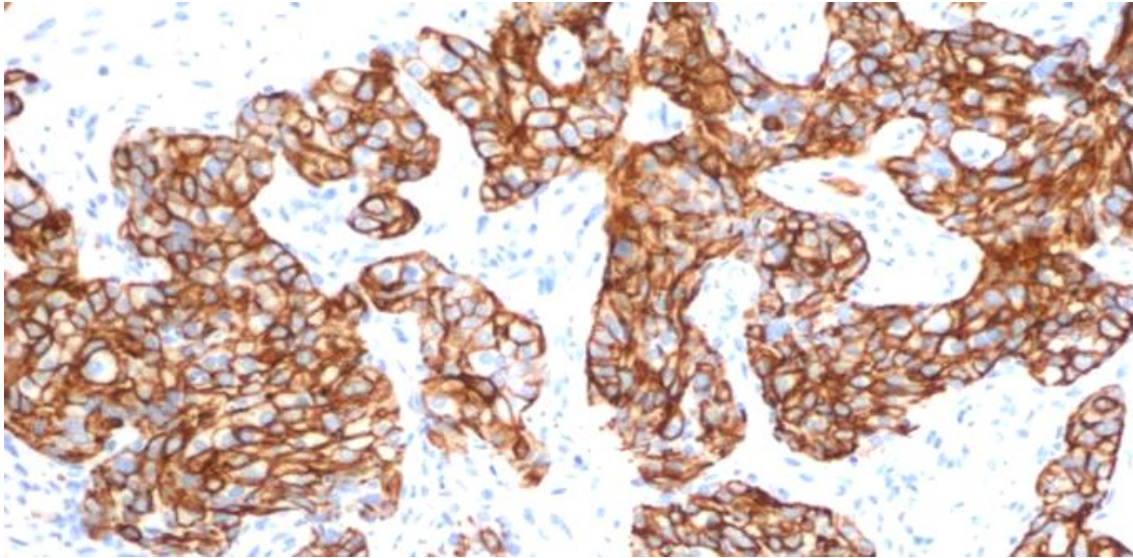


Figura 11 Tinción con CK-19 que pone de manifiesto la presencia de carcinoma invasivo residual.

En una minoría de los casos el único carcinoma residual que se encuentra es Carcinoma Ductal In Situ (DICS), émbolos linfáticos tumorales o ambos. En el caso del primero, las células pueden mostrar tamaño aumentado, un marcado pleomorfismo y estar rodeadas de células mioepiteliales. También pueden presentarse de forma individual o agrupadas entre células benignas en el epitelio ductal o lobulillar. Este escenario plantea un problema en cuanto a clasificación de la respuesta al quedar todavía carcinoma residual, pero sin invasión del estroma.

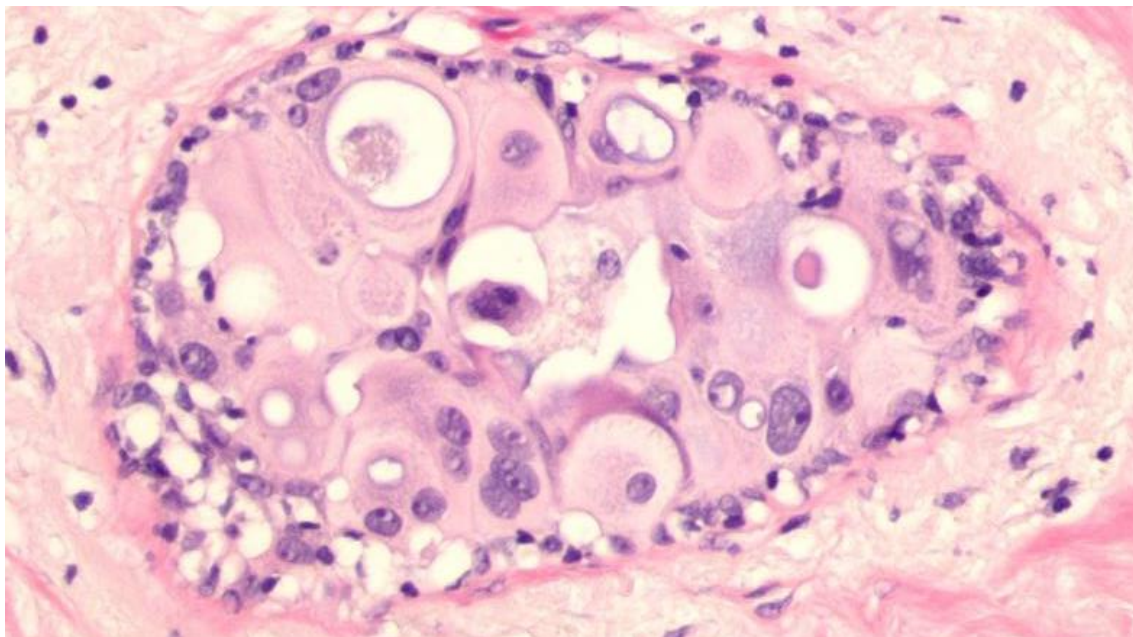


Figura 12 Carcinoma intraductal residual.

Rabban et al (16) describe una serie de casos en los que el único hallazgo de carcinoma residual es invasión linfática. En este estudio los pacientes con presencia de invasión linfática residual mostraron un aumento significativo de la mortalidad. También se observó un aumento del riesgo de progresión de la enfermedad, pero sin significación estadística.

Como el hallazgo de invasión linfática tiene repercusión en el pronóstico, es muy importante no pasarla por alto. Para facilitar la detección de la misma, podemos usar mediante inmunohistoquímica, el antisuero D2 40 que marca los vasos linfáticos.

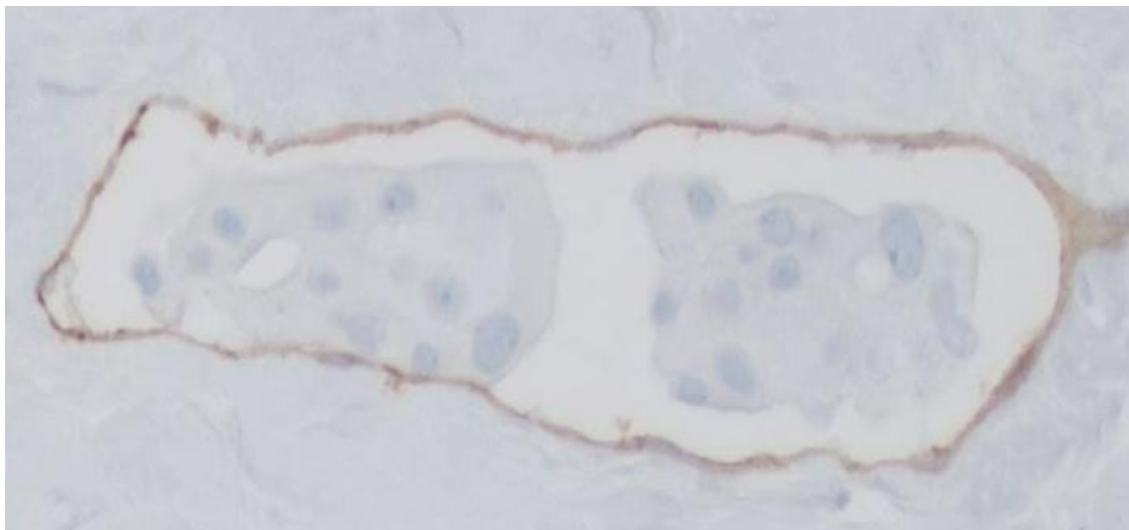


Figura 13 Técnica inmunohistoquímica para marcar vasos linfáticos con D2-40.

Respecto a posibles cambios que afecten a la clasificación de un tumor como HER2+/- , Niikura et al (17) muestra que el paso de HER2+ a HER2- tras ser tratados con quimioterapia neoadyuvante afectó a 601 pacientes de 2811 (21,4%) y el paso de HER2- a HER2+ a 340 de 9947 (3,4%). En estudios previos se había encontrado que el estatus del HER2 se mantenía en todos los casos apreciándose un cambio en el caso de RE y RP del 8% (18). Este hallazgo hace recomendable reevaluar el estado de los receptores RE, RP y HER2 tras administrar terapia neoadyuvante. En este mismo estudio, además, el recuento de Ki67 fue menor tras administrar quimioterapia neoadyuvante.

4.3 Ganglios Linfáticos

La evaluación de los ganglios linfáticos en el estadije inicial del cáncer de mama ha demostrado ser una técnica mínimamente invasiva y certera (19).

El estudio tras administrar quimioterapia neoadyuvante es de gran importancia en cuanto a resultados a largo plazo, pero su adecuada evaluación es un reto debido a que los pacientes respondedores suelen presentar enfermedad axilar clínicamente menos evidente, en forma de metástasis más pequeñas y en menos ganglios en comparación con su situación antes del tratamiento. En esta dirección, Neuman et al (20) y Bélanger et al (21) hallaron que la administración de quimioterapia neoadyuvante es el único factor responsable de que en estas pacientes sea más probable aislar menos de 10 ganglios durante la disección axilar.

Los efectos de la quimioterapia en las metástasis de los ganglios linfáticos son similares a los que sufre el tumor primario:

- Atrofia y disminución del tamaño de los ganglios fueran o no metastásicos.
- Disminución del número de linfocitos con presencia en su lugar de fibrosis e histiocitos.
- Agrupaciones de células carcinomatosas confinadas en zonas de fibrosis e inflamación crónica.

La presencia de fibrosis e histiocitos es característica de ganglios que anteriormente presentaban metástasis(11) . La tinción con CK que marca células epiteliales facilita la detección de carcinoma residual.

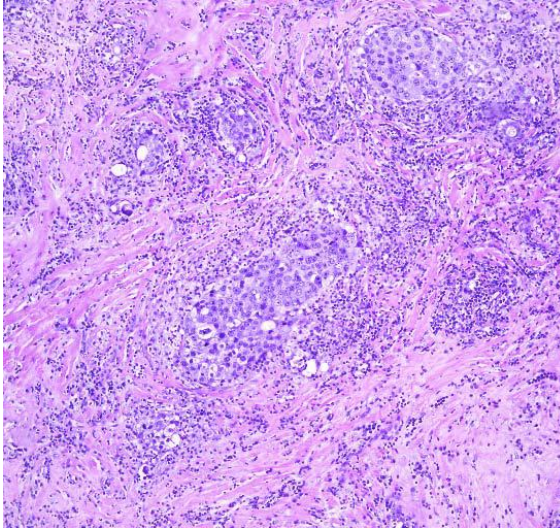


Figura 14 Ganglio con respuesta parcial (11).

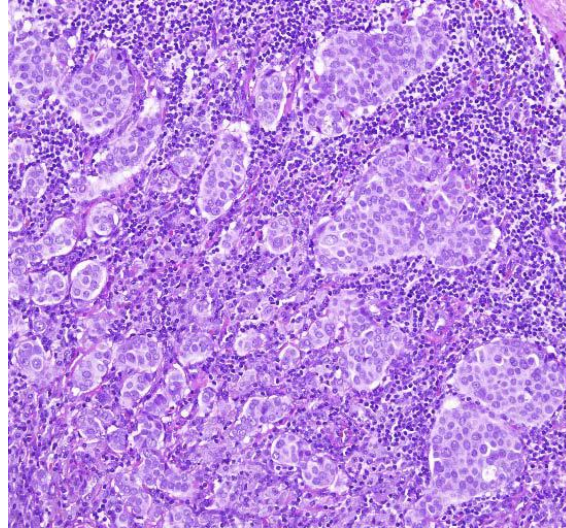


Figura 15 Ganglio sin respuesta (11).

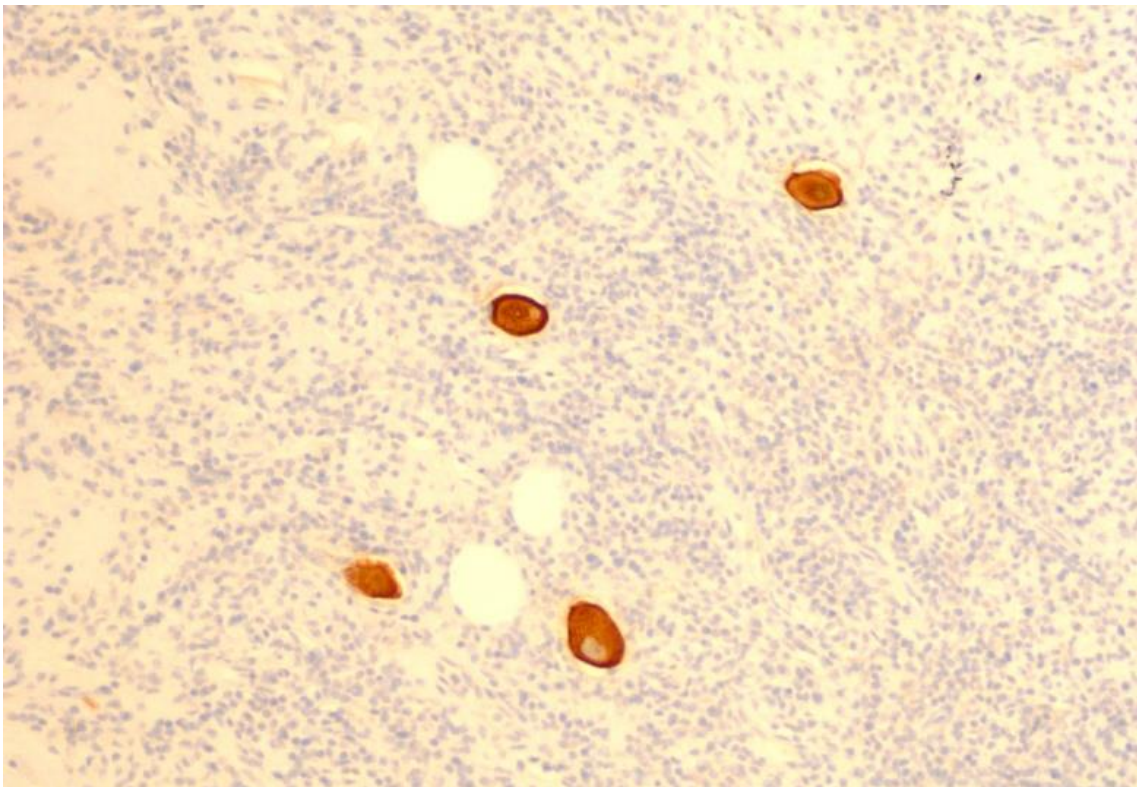


Figura 16 Tinción con CK AE1 AE3 que revela carcinoma residual

En cuanto a los efectos sobre el ganglio centinela, Tsuyuki et al(22) compararon la localización del ganglio y el trazado con Indocianina verde-fluorescente en 36 pacientes obteniendo los siguientes resultados:

- En un 42,8% de los pacientes el trazado para llegar al ganglio centinela había cambiado por acción de la quimioterapia neoadyuvante.
- En ningún caso cambió la localización del ganglio centinela.
- Se concluyó que el verdadero ganglio centinela podía seguir siendo detectado tras la quimioterapia neoadyuvante.

5. Evaluación de la respuesta a la quimioterapia neoadyuvante

Hay que documentar previamente a la terapia el tamaño del tumor, la posible multifocalidad, el subtipo histológico, el estado de los receptores RE, RP, HER2, Ki67 y el estado de los ganglios.

Examen macroscópico

La evaluación anatomopatológica comienza con el examen macroscópico en el que se pueden dar 2 situaciones:

- Localización del tumor difícil: La razón es que el tumor ha desaparecido. El clip metálico colocado en el lecho tumoral es muy útil como guía a la hora de determinar la regresión radiográficamente y su localización macroscópica especialmente en el caso de respuesta completa (23).
- Localización del tumor fácil: Porque sigue presente y es obvio.

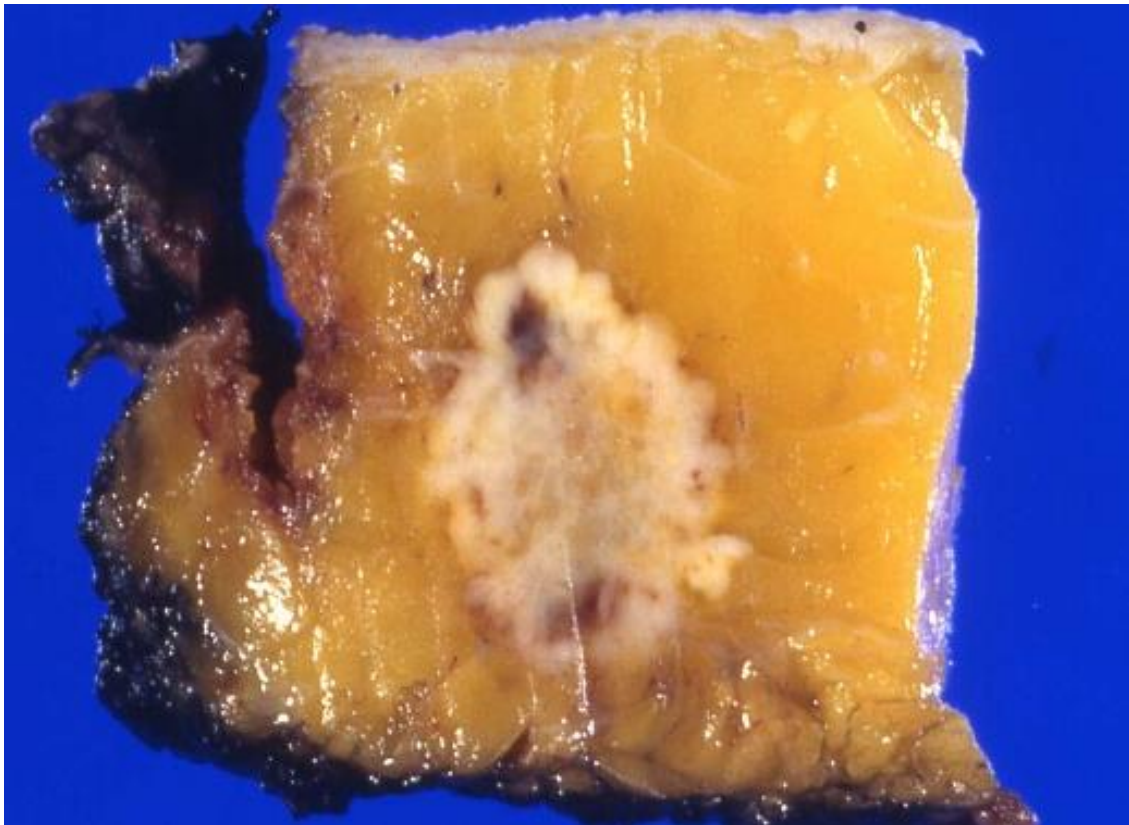


Figura 17 Pieza macroscópica con CDI no modificado por la neoadyuvancia



Figura 18 Carcinoma respondedor a la neoadyuvancia con un clip metálico colocado

Examen microscópico

La identificación del tumor residual o su ausencia plantea el mismo problema que en el examen macroscópico:

- Localización difícil: El tumor ha respondido y sólo podemos encontrar células carcinomatosas residuales.
- Localización fácil: El carcinoma residual es obvio.

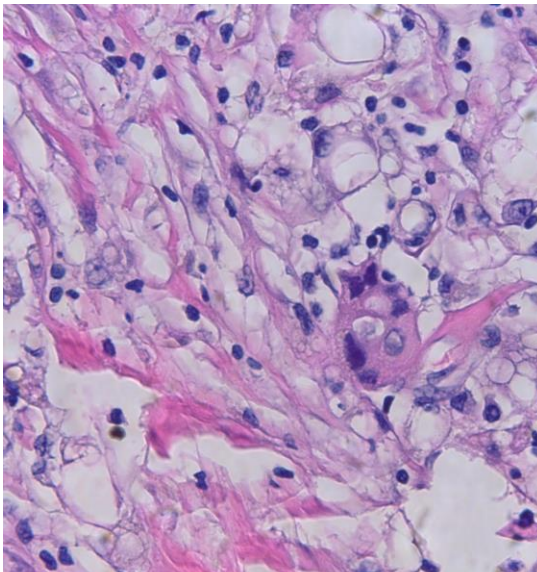


Figura 19 Células carcinomatosas residuales

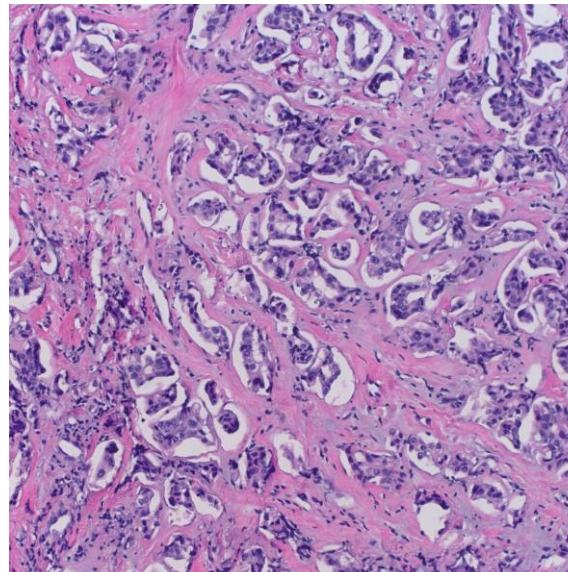


Figura 20 Carcinoma residual evidente

Estas dos situaciones corresponden a casos extremos entre los que hay una gran variedad de respondedores parciales. Por ello hay en la actualidad varios sistemas de clasificación de la respuesta que se explican a continuación.

5.1 Sistemas de evaluación de la respuesta

- **NSABP B-18:** Usado en uno de los mayores estudios (1234 pacientes) comparativos entre terapia adyuvante y neoadyuvante (24). Solo tiene 3 categorías y las metástasis en nódulos linfáticos se analizan de forma separada. Ha sido validado para evaluar la supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global.
 - pCR: No se reconocen células tumorales invasivas.
 - pPR: Respuesta parcial. Presencia de células individuales o pequeños nidos en estroma desmoplasmático o hiperhialino.
 - pNR: Tumores que no exhiben ninguno de los cambios anteriores.
- **Miller-Payne System:** Usado en un estudio con 176 pacientes, se halló correlación con la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global (25). La respuesta se divide en 5 grupos según la reducción de la celularidad tumoral postratamiento respecto a la pretratamiento. No evalúa la respuesta en los nódulos linfáticos ni la invasión linfática o vascular, ni el tamaño tumoral. Además, la evaluación de la celularidad puede ser difícil de evaluar.
 - Grado 1: Sin reducción en la celularidad. Admite alguna alteración en las células malignas.
 - Grado 2: Respondedor parcial. Hasta una reducción de la celularidad del 30%.
 - Grado 3: Respondedor parcial. Reducción de la celularidad entre el 30% y 90%.
 - Grado 4: Casi es respondedor completo. Reducción de la celularidad superior al 90% pero con presencia de células carcinomatosas individuales o agrupadas en pequeños nidos.
 - Grado 5: pCR. No se identifican células malignas en los cortes del lecho tumoral. Sólo queda tejido fibroelástico vascularizado frecuentemente con macrófagos y en algunos casos carcinoma ductal in situ.

Aunque este sistema no evalúa la respuesta en los ganglios, Pinder et al(26) propuso una modificación de este y añadió una clasificación para incluirla. Se evalúa la respuesta individual de cada ganglio aislado en la linfadenectomía de la siguiente manera:

 1. Sin evidencia de metástasis ni cambios por neoadyuvancia.
 2. Sin evidencia de metástasis, pero se aprecian cambios debido al tratamiento.
 3. Metástasis presente pero también cambios debidos al tratamiento.
 4. Metástasis presente sin cambios debidos al tratamiento.
- **Chevallier System:** Usado en un estudio con 45 pacientes con carcinoma inflamatorio. Divide la respuesta en 4 grupos con la diferencia de que clasifica a la presencia de carcinoma in situ en un grupo distinto de los que no presentan carcinoma residual cuando la mayoría de sistemas los consideran situaciones equivalentes. Sirve como pronóstico de supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global (27).
 - Clase 1: pCR. Desaparición completa del tumor.
 - Clase 2: Presencia de carcinoma ductal in situ, ausencia de carcinoma invasivo y ganglios linfáticos negativos.

- Clase 3: pPR. Presencia de carcinoma invasivo y alteración del estroma en forma de esclerosis o fibrosis.
 - Clase 4: pNR. Pocas o ninguna modificación del aspecto del tumor.
- **Sataloff System:** Usado en un estudio de 36 pacientes. Clasifica la respuesta tanto del carcinoma como de los ganglios linfáticos. No incluye el estudio de la invasión linfática o vascular en el lecho tumoral. Aunque incluye 2 categoría de respuesta parcial, sólo encuentra diferencias en la supervivencia entre las pacientes con pCR y el resto de grupos, siendo la diferencia entre los distintos grupos de respuesta parcial no significativa (28).

Tumor

- T-A: pCR. Respuesta completa o casi completa.
- T-B: pPR. Respuesta de más del 50% pero menor que el grupo superior.
- T-C: pPR. Menos de un 50% de respuesta, pero con efectos del tratamiento evidentes.
- T-D: pNR. Sin modificaciones.

Ganglios

- N-A: Sin metástasis y con evidencia de respuesta.
- N-B: Sin metástasis ni efecto del tratamiento.
- N-C: Con evidencia de efecto del tratamiento, pero con metástasis presentes.
- N-D: Metástasis evidentes y sin respuesta al tratamiento.

- **RCB System:** Usado para calcular la carga residual tumoral (Residual Cancer Burden) en un estudio con 382 pacientes divididos en 2 cohortes con tratamientos diferentes. Permite predecir la supervivencia libre de recidiva tanto local como a distancia, pero no tiene en cuenta la muerte por cualquier causa. Para calcularlo, se tienen en cuenta la celularidad residual del carcinoma invasivo distribuida en el lecho tumoral, el número de metástasis en los ganglios linfáticos y el tamaño de la mayor de ellas, obteniendo como resultado un índice que se clasifica en 4 categorías (29).
 - RCB-0: pCR. Sin carcinoma presente en mama o ganglios linfáticos.
 - RCB-1: pPR. Respuesta parcial.
 - RCB-2: pPR. Respuesta parcial.
 - RCB-3: Resistente a la quimioterapia.

Para el cálculo del índice se requiere el uso de una fórmula, pero hay disponible una herramienta en online en la que introduciendo los parámetros anteriormente descritos calcula tanto el índice, que es una variable continua, como la categoría de respuesta.

*Values must be entered into all fields for the calculation results to be accurate.

(1) Primary Tumor Bed

Primary Tumor Bed Area: (mm) X (mm)

Overall Cancer Cellularity (as percentage of area): (%)

Percentage of Cancer That Is *in situ* Disease: (%)

(2) Lymph Nodes

Number of Positive Lymph Nodes:

Diameter of Largest Metastasis: (mm)

Residual Cancer Burden:

Residual Cancer Burden Class:

Figura 21 Residual Cancer Burden Calculator. Ejemplo realizado con la herramienta disponible en <http://www3.mdanderson.org/app/medcalc/index.cfm?pagename=jsconvert3>

- **AJCC System 6^aed (30)** : Usado en un estudio con 132 pacientes con enfermedad no metastásica para determinar la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global (31).

Se asigna un TNM al tumor añadiendo una “y” para indicar que el estadiaje es postneoadyuvancia y una “c” si se evalúa clínicamente o por imagen o una “p” si se evalúan hallazgos anatomopatológicos. Como problemas presenta la dificultad para evaluar el tamaño del tumor y el estado de los ganglios tras la neoadyuvancia. La clasificación es igual a la que se realiza antes del tratamiento¹:

Tumor

- Tx: No se puede evaluar el tumor primario.
- T0: Sin evidencia de tumor primario.
- Tis: Carcinoma in situ.
- T1: Menor de 2 cm en su mayor dimensión.
- T2: Tumor entre 2cm y 5cm en su mayor dimensión.
- T3: Tumor de más de 5 cm en su mayor dimensión.
- T4: Tumor de cualquier tamaño que se extienda a pared torácica o piel.

Ganglios linfáticos

- Nx: No se pueden evaluar.
- N0: Sin metástasis. Si se ha realizado alguna técnica inmunohistoquímica se especifica pN0(i+/-)

¹ La clasificación aquí descrita es una abreviación de la que se encuentra publicada en “AJCC Cancer Staging Manual”

- N1: Metástasis en 1-3 ganglios axilares y enfermedad detectada microscópicamente en mamaros internos, pero sin ser detectable clínicamente.
- N2: Metástasis en 4-9 ganglios axilares o ausencia de estas junto a metástasis clínicamente apreciable en mamaros internos.
- N3: Metástasis en más de 10 ganglios axilares o en cualquier número en infraclavicular o supraclavicular ipsilaterales. También se incluyen las metástasis clínicamente apreciables de mamaros internos con hasta 2 axilares o más de 3 si los mamaros internos no son apreciables clínicamente.

Metástasis a distancia

- MX: No se puede evaluar.
- M0: Sin metástasis a distancia.
- M1: Con metástasis a distancia. Si se ha realizado biopsia de la misma, se especifica.

En su **séptima edición** presenta algunos cambios en la clasificación:

En cuanto al tamaño tumoral, “ypT” se define como la distancia máxima que separa a las células carcinomatosas a no ser que estén claramente definidas como focos distintos. La definición de “ypT” sigue siendo controvertida en la Séptima edición del manual.

La clasificación de los ganglios con metástasis inferior a 0,2 milímetros es de “ypN0(i+)” como los pacientes que no han recibido neoadyuvancia. Sin embargo, se excluyen de la definición de pCR.

Se considera como M1 (y por tanto estadio IV) a cualquier paciente con metástasis detectadas antes del tratamiento clínicamente, radiográficamente o por medio de una biopsia sin tener en cuenta el estado posterior a la terapia.

Hay que mencionar que todos estos sistemas tienen como limitación que se apoyan en una toma adecuada y extensa de muestras de la pieza quirúrgica (11) .

6. Otras técnicas de valoración de la respuesta

El “gold standard” para la valoración de la respuesta a la neoadyuvancia es la anatomía patológica, lo que no impide que se hayan llevado a cabo estudios para determinar qué rol pueden desempeñar otras técnicas. Aquí se resume la evidencia científica disponible hasta la fecha en las técnicas de imagen principales.

El valor de la Mamografía para determinar respuesta a la terapia es escaso. Vinniconne et al (32) demuestra la presencia de carcinoma residual en 5 de 8 pacientes que por Mamografía se habían clasificado como respuesta completa. Las calcificaciones pueden variar de cualquier forma, aumentar, estabilizarse o reducirse después de la quimioterapia neoadyuvante (33).

La Resonancia Magnética Nuclear se plantea como una opción superior para detectar carcinoma residual llegando a coincidir en sus resultados con los hallazgos histológicos en un 71% (34)

mientras que la exploración clínica lo hizo en un 19%, la mamografía en un 26% y la ecografía en un 35%.

El PET parece ser un método sensible para identificar a pacientes con una respuesta temprana pero su utilidad para discernir los que responden completamente de los que lo hacen parcialmente está por determinar (35).

Actualmente no hay recomendaciones en cuanto a la vigilancia por imagen durante la terapia (36).

7. Otras terapias neoadyuvantes

7.1 Hormonoterapia

Los estrógenos y andrógenos han sido usados para el tratamiento del cáncer de mama durante varias décadas. En 1949 Adair et al (37) describió los efectos de las hormonas sexuales esteroideas en el tejido tumoral como “cambios degenerativos en el núcleo y citoplasma de las células carcinomatosas, proliferación de fibroblastos y esclerosis del tejido conectivo”.

Los cambios producidos por dosis terapéuticas de estrógenos sobre el tejido mamario sano fueron descritos por Huseby y Thomas en 1954 (38). En mujeres postmenopáusicas, el epitelio ductal mostraba proliferación, elongación de los ductos terminales y formación de lobullos. Además, se acompañaba de acumulación de tejido conectivo entre los lóbulos. También se observó que los cambios producidos en el tejido sano no se correlacionaban necesariamente con la regresión del carcinoma.

Emerson et al (39) hallaron que los carcinomas con menor grado de diferenciación mostraban mejor respuesta al tratamiento y la duración de la regresión tumoral era mayor. En algunos casos que mostraban regresión del carcinoma, encontraron células carcinomatosas viables en los conductos linfáticos. La falta de respuesta de las células en el interior de los ductos fue atribuida a que su exposición a las hormonas era menor.

El Tamoxifeno es el fármaco más estudiado en este tipo de terapia. Sin embargo, los cambios histopatológicos que produce sobre el tejido mamario han sido escasamente descritos. En este sentido, Walker et al (40) examinaron las biopsias de pacientes tratadas con tamoxifeno durante 3 semanas en el mayor de los casos. Este estudio halló un incremento de la expresión de receptores estrogénicos en el epitelio ductal y lobular en comparación a pacientes no tratados.

7.2 Ablación por radiofrecuencia

Se basa en la destrucción del tumor por calor mediante el uso de sondas de ablación de radiofrecuencia. La lesión celular comienza a 42°C y las células mueren a 60°C. Hay dos modalidades principales: radiofrecuencia percutánea y resección seguida de ablación con radiofrecuencia.

En el examen macroscópico la lesión producida consiste en un área central blanquizca que marca el lugar donde estuvo colocada la sonda. Esta zona está rodeada de tejido coagulado de coloración amarillenta que a su vez se encuentra rodeado por una circunferencia de tejido hiperémico.

En el estudio microscópico, se aprecia necrosis del tumor y distorsión de la arquitectura (41). Además, se puede emplear la NADH-diaforasa para evaluar la viabilidad de las células carcinomatosas residuales (42).

7.3 Crioablación

Está aprobado su uso en el tratamiento de los fibroadenomas y se están llevando a cabo estudios con tumores de tamaño inferior a 4 cm. Sabel et al (43) aplicaron esta terapia a 27 pacientes con un tamaño tumoral medio de 1,2cm. Se obtuvo respuesta completa en la evaluación microscópica en todos los que eran menores de 1 cm. En los comprendidos entre 1 cm y 1,5 cm también consiguió la regresión completa del tumor mientras no tuviesen más de un 25% de carcinoma intraductal in situ o no fuese de tipo lobulillar. Por lo tanto, su uso sólo se recomienda en tumores de menos de 1,5 cm sin gran componente intraductal ni subtipo lobulillar.

Los cambios anatomopatológicos se pueden apreciar a partir de 7 días desde el tratamiento. Se observa una zona de necrosis coagulativa rodeada de necrosis de tejido liposo y proliferación de tejido cicatricial. Fuera de este perímetro se puede encontrar carcinoma residual infiltrante o in situ.

8. Resultados del tratamiento con terapia neoadyuvante

Quimioterapia

HER2+

En el caso de los pacientes HER2+, se obtienen tasas de pCR relativamente altas y son mejores si se añade un agente dirigido contra HER2 como Trastuzumab. En un estudio de 221 pacientes con tumores mayores de 3 cm a los que se administró Doxorrubicina junto a Ciclofosfamida y Paclitaxel (7) se obtuvieron los siguientes resultados:

- Un 39% de los HER2+ tratados con esa combinación de fármacos tuvieron una pCR (18 de 46)
- El 60% de los HER2+ a los que se administró también Trastuzumab alcanzaron una pCR (12/20).

Las tasas más altas de pCR conllevan que los pacientes HER2+ que además reciben un agente dirigido contra HER2 muestren un aumento de la supervivencia y tiempo libre de enfermedad (44).

HER2-

Los tumores HER2 negativo con receptores hormonales positivos consiguen menos de un 10% de pCR (7).

Triple negativo

Los resultados en Tumores de Mama triple negativos varían del 27% al 45% de pCR y tienen un pronóstico parecido a otros subtipos que alcanzan pCR (6).

Hormonoterapia

El **tamoxifeno** ha demostrado ser capaz de reducir el tamaño del tumor y mejorar la supervivencia de las pacientes con receptores hormonales positivos.

Comparados con la quimioterapia neoadyuvante, los **inhibidores de la aromatasa** como anastrozol y exemestanol han conseguido una tasa de respuesta similar con pacientes postmenopáusicas con receptores hormonales positivos. Además, presentan efectos secundarios mejor tolerados (45).

Por otra parte, también han conseguido mejorar los resultados del tamoxifeno en cuanto a regresión del tumor y tasas de conservación de la mama (46). Sin embargo, en la actualidad no se ha establecido la superioridad de letrozol, anastrozol o exemestano sobre el resto por lo que cualquier inhibidor de la aromatasa se puede usar (47).

Técnicas ablativas

La ablación por radiofrecuencia y la crioablación obtienen buenos resultados en carcinomas de menos de 2 cm no lobulillares sin componente intraductal extenso. Sin embargo, los resultados a largo plazo están por descubrirse.

A pesar de que se hipotetizó que la terapia neoadyuvante sería mejor en términos de supervivencia respecto a la adyuvante, los estudios no han demostrado todavía beneficio respecto a esta (48).

9. Predicción de la respuesta a la neoadyuvancia

Como la terapia neoadyuvante no está exenta de efectos secundarios, es de utilidad tener la capacidad de detectar los pacientes que más se van a beneficiar de ella y poder ahorrar a los no respondedores los efectos indeseados del tratamiento.

En búsqueda de características histológicas que nos permitan predecir la respuesta del tumor a la quimioterapia neoadyuvante, Pu et al (49) realizó un estudio en el que tomó las biopsias de 55 pacientes con carcinomas invasivos de mama y determinó los siguientes parámetros: el grado histológico y nuclear, la presencia de necrosis tumoral e invasión vascular o linfática, la expresión de receptores de estrógenos y progesterona y HER2.

Encontró que entre los que habían respondido completamente, el 80% tenía necrosis tumoral en la biopsia con aguja gruesa, mientras que entre los que no respondieron la encontró solamente en el 17%. Además, la presencia de metástasis en nódulos linfáticos axilares se asoció de forma significativa con la presencia de émbolos tumorales linfáticos en la biopsia de aguja gruesa. Concluyó que la presencia de necrosis tumoral y la invasión vascular o linfática en la biopsia pretratamiento son características útiles para predecir la respuesta a este. El resto de datos recogidos no se encontraron asociados a la probabilidad de obtener una pCR.

La respuesta a la neoadyuvancia varía con la ploidía, así, los carcinomas con aneuploidía son más proclives que los diploides a mostrar cambios histológicos y citológicos por acción de la quimioterapia (50).

Papel del Ki67

El recuento de Ki67 se define como el porcentaje de células tumorales cuyo núcleo se marca con uno de los siguientes anticuerpos: MM-1, Ki-S5, SP-6 o MIB-1 (siendo este último el más empleado). El anticuerpo empleado varía de un laboratorio a otro.

Los cambios en el valor del recuento de Ki67 están asociados con la eficacia del tratamiento neoadyuvante, pero su capacidad como predictor de la respuesta es un tema ampliamente

estudiado y por lo tanto hay abundante bibliografía al respecto. Sin embargo, la gran variabilidad entre laboratorios, técnicas, formas de conteo y ausencia de estandarización dificulta la obtención de resultados significativos que permitan recomendar su uso de forma generalizada (51).

Como resultado de “13th St Gallen International Breast Cancer Conference (2013)” en el que se revisó la nueva evidencia respecto al cáncer de mama se estableció la recomendación de incluir Ki67 como un factor para distinguir dentro del grupo de los que presentan receptores estrogénicos positivo los subtipos Luminal A y Luminal B. Aunque no se estandarizaron los valores, se concluyó que un valor superior al 20% era claramente indicativo de tener un resultado de Ki67 alto. A pesar del establecimiento de tal recomendación, su uso en decisiones terapéuticas fue cuestionado por una minoría.

Burcombe et al (52) llevó a cabo un estudio con carcinomas operables de mama estadificados entre T2-T4, N0-1 y M0 de los que tomaron biopsias con aguja gruesa para investigar la relación entre los marcadores de proliferación y la respuesta a la quimioterapia neoadyuvante. El resultado fue la ausencia de diferencias entre los que respondieron a la terapia y los que no lo hicieron en cuanto al índice de apoptosis y Ki67 que se determinó a partir de muestras obtenidas antes, durante y después de la terapia. En este estudio, Ki67 y el índice de apoptosis no eran predictivos de la respuesta a la quimioterapia.

Ingolf et al (53) realizaron un estudio con 77 pacientes en el que se encontró que el grupo que conseguía una pCR más alta era también el que tenía los valores más altos de Ki67, pero de forma no significativa. En el mismo estudio, separando a los pacientes en grupos de niveles de Ki67 bajos, medios y altos tampoco se encontraron diferencias significativas.

Nishimae et al (54) clasificaron a 52 pacientes según el nivel de Ki67 que exhibían en 3 grupos: bajo (<20%), intermedio (20%-50%) y alto (>50%). Las respuestas completas de los 3 grupos fueron respectivamente: 29%, 15% y 48%. En el análisis univariante se encontró que tanto los niveles de Ki67 como la no expresión de receptor de estrógenos (ER-) se asociaban de manera significativa con el grupo que respondía ($p<0.05$). En el análisis multivariante, sin embargo, ninguno de los dos lo hacía.

Alba et al (15) analizaron a 262 pacientes con el objetivo de encontrar el nivel de Ki67 óptimo para su uso como predictor de respuesta. Utilizando un punto de corte de >50% para dividir a los pacientes en dos grupos, se obtuvieron los siguientes resultados:

- Los pacientes con Ki67>50% obtuvieron un porcentaje de respuesta del 40% (31 de 91) versus un 19% entre los que Ki67<50% (33 de 171) ($p=0.004$).
- El valor predictivo de Ki67 era especialmente relevante en pacientes HER2- y HER2+ con RE- Se obtuvo pCR en el 42% y 64% de los que tenían Ki67>50% mientras que en los que presentaban Ki67<50% era del 15% y 45% respectivamente.
- Se concluyó que un índice Ki67 >50% se debería considerar como un factor predictor independiente de respuesta la quimioterapia neoadyuvante. Este hallazgo sugiere que la proliferación celular es un fenómeno estrechamente relacionado con la sensibilidad a la quimioterapia.

10. Conclusiones

El uso de la quimioterapia neoadyuvante está en auge. Aunque, todavía no ha demostrado beneficio en términos de supervivencia respecto a la adyuvante, sí que obtiene tasas de conservación de la mama superiores.

El “gold standard” para la evaluación de la respuesta a la terapia es el estudio anatomopatológico y se prevé que lo siga siendo en el futuro.

En la actualidad conviven varios sistemas de evaluación de la respuesta a la quimioterapia neoadyuvante sin existir evidencia de la superioridad de uno sobre el resto.

La mayoría de métodos anatomopatológicos de evaluación de la respuesta a la terapia neoadyuvante sólo son capaces de distinguir dos grupos con implicaciones en el pronóstico: respondedores completos (pCR) y no respondedores (pNR). Los grupos clasificados como respondedores parciales presentan un pronóstico tan desfavorable como los no respondedores.

El estado de los receptores RE, RP y HER2 tras administrar terapia neoadyuvante puede cambiar respecto al determinado antes del tratamiento. Es recomendable reevaluarlos.

La proliferación celular, el grado histológico, la invasión linfática o vascular, el subtipo inmunohistoquímico, la presencia de necrosis en la biopsia de aguja gruesa y un recuento alto de Ki67 son características relacionadas con la sensibilidad a la quimioterapia, pero todavía son necesarios más estudios para identificar a los pacientes que se pueden beneficiar del tratamiento con quimioterapia neoadyuvante.

Las técnicas ablativas muestran resultados prometedores en carcinomas menores de 2 cm no lobulillares y sin componente intraductal extenso. Sin embargo, los resultados de los ensayos que se están llevando a cabo en la actualidad determinarán sus usos específicos.

Bibliografía

1. Untch M, Konecny GE, Paepke S, von Minckwitz G. Current and future role of neoadjuvant therapy for breast cancer. *Breast*. 2014;23(5):526-37.
2. 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. *J Clin Oncol*. 2008;26(5):778-85.
3. Alkuwari E, Auger M. Accuracy of fine-needle aspiration cytology of axillary lymph nodes in breast cancer patients: a study of 115 cases with cytologic-histologic correlation. *Cancer*. 2008;114(2):89-93.
4. 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;23(30):7703-20.
5. Alba E, Calvo L, Albanell J, De la Haba JR, Arcusa Lanza A, Chacon JI, et al. Chemotherapy (CT) and hormonotherapy (HT) as neoadjuvant treatment in luminal breast cancer patients: results from the GEICAM/2006-03, a multicenter, randomized, phase-II study. *Ann Oncol*. 2012;23(12):3069-74.
6. Carey LA, Dees EC, Sawyer L, Gatti L, Moore DT, Collichio F, et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res*. 2007;13(8):2329-34.
7. Esserman LJ, Berry DA, DeMichele A, Carey L, Davis SE, Buxton M, et al. Pathologic complete response predicts recurrence-free survival more effectively by cancer subset: results from the I-SPY 1 TRIAL--CALGB 150007/150012, ACRIN 6657. *J Clin Oncol*. 2012;30(26):3242-9.
8. Hoda S, Brogi E, Kuerner F, Rosen P. *Rosen's Breast Pathology*. Fourth edition. 2014.
9. Feldman LD, Hortobagyi GN, Buzdar AU, Ames FC, Blumenschein GR. Pathological assessment of response to induction chemotherapy in breast cancer. *Cancer Res*. 1986;46(5):2578-81.
10. Fe S, Si A, Li F, Cp P, Ab C. Effects of preoperative chemotherapy on the morphology of resectable breast carcinoma. *Mod Pathol*. 1996;9(9):893-900.
11. Fan F. Evaluation and reporting of breast cancer after neoadjuvant chemotherapy. *Open Pathol J*. 2009;3:58-63.
12. Chollet P, Abrial C, Durando X, Thivat E, Tacca O, Mouret-Reynier M-A, et al. A new prognostic classification after primary chemotherapy for breast cancer: residual disease in breast and nodes (RDBN). *Cancer J*. 2008;14(2):128-32.
13. Rajan R, Poniecka A, Smith TL, Yang Y, Frye D, Pusztai L, et al. Change in tumor cellularity of breast carcinoma after neoadjuvant chemotherapy as a variable in the pathologic assessment of response. *Cancer*. 2004;100(7):1365-73.

14. Rasbridge SA, Gillett CE, Seymour AM, Patel K, Richards MA, Rubens RD, et al. The effects of chemotherapy on morphology, cellular proliferation, apoptosis and oncoprotein expression in primary breast carcinoma. *Br J Cancer*. 1994;70(2):335-41.
15. Alba E, Lluch A, Ribelles N, Anton-Torres A, Sanchez-Rovira P, Albanell J, et al. High Proliferation Predicts Pathological Complete Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Early Breast Cancer. *Oncologist*. 2016;21(2):150-5.
16. Rabban JT, Glidden D, Kwan ML, Chen Y-Y. Pure and predominantly pure intralymphatic breast carcinoma after neoadjuvant chemotherapy: an unusual and adverse pattern of residual disease. *Am J Surg Pathol*. 2009;33(2):256-63.
17. Niikura N, Tomotaki A, Miyata H, Iwamoto T, Kawai M, Anan K, et al. Changes in tumor expression of HER2 and hormone receptors status after neoadjuvant chemotherapy in 21 755 patients from the Japanese breast cancer registry. *Ann Oncol*. 2016;27(3):480-7.
18. Burcombe RJ, Makris A, Richman PI, Daley FM, Noble S, Pittam M, et al. Evaluation of ER, PgR, HER-2 and Ki-67 as predictors of response to neoadjuvant anthracycline chemotherapy for operable breast cancer. *Br J Cancer*. 2005;92(1):147-55.
19. Chang MC, Crystal P, Colgan TJ. The evolving role of axillary lymph node fine-needle aspiration in the management of carcinoma of the breast. *Cancer Cytopathol*. 2011;119(5):328-34.
20. Neuman H, Carey LA, Ollila DW, Livasy C, Calvo BF, Meyer AA, et al. Axillary lymph node count is lower after neoadjuvant chemotherapy. *Am J Surg*. 2006;191(6):827-9.
21. Bélanger J, Soucy G, Sidéris L, Leblanc G, Drolet P, Mitchell A, et al. Neoadjuvant chemotherapy in invasive breast cancer results in a lower axillary lymph node count. *J Am Coll Surg*. 2008;206(4):704-8.
22. Tsuyuki S, Yamaguchi A, Kawata Y, Kawaguchi K. Assessing the effects of neoadjuvant chemotherapy on lymphatic pathways to sentinel lymph nodes in cases of breast cancer: Usefulness of the indocyanine green-fluorescence method. *Breast*. 2015;24(3):298-301.
23. Baron LF, Baron PL, Ackerman SJ, Durden DD, Pope TL. Sonographically guided clip placement facilitates localization of breast cancer after neoadjuvant chemotherapy. *AJR Am J Roentgenol*. 2000;174(2):539-40.
24. Fisher ER, Wang J, Bryant J, Fisher B, Mamounas E, Wolmark N. Pathobiology of preoperative chemotherapy: findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel (NSABP) protocol B-18. *Cancer*. 2002;95(4):681-95.
25. 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.
26. 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;50(4):409-17.

27. Chevallier B, Roche H, Olivier JP, Chollet P, Hurteloup P. Inflammatory breast cancer. Pilot study of intensive induction chemotherapy (FEC-HD) results in a high histologic response rate. *Am J Clin Oncol*. 1993;16(3):223-8.
28. Sataloff DM, Mason BA, Prestipino AJ, Seinige UL, Lieber CP, Baloch Z. Pathologic response to induction chemotherapy in locally advanced carcinoma of the breast: a determinant of outcome. *J Am Coll Surg*. 1995;180(3):297-306.
29. 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.
30. Frederick L, Page DL, Fleming ID, Fritz AG, Balch CM, Haller DG, et al. *AJCC cancer staging manual*. Vol. 1. Springer Science & Business Media; 2002
31. Carey LA, Metzger R, Dees EC, Collichio F, Sartor CI, Ollila DW, et al. American Joint Committee on Cancer tumor-node-metastasis stage after neoadjuvant chemotherapy and breast cancer outcome. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97(15):1137-42.
32. Vinnicombe SJ, MacVicar AD, Guy RL, Sloane JP, Powles TJ, Knee G, et al. Primary breast cancer: mammographic changes after neoadjuvant chemotherapy, with pathologic correlation. *Radiology*. 1996;198(2):333-40.
33. Esserman LE, d'Almeida M, Da Costa D, Gerson DM, Poppiti RJ. Mammographic appearance of microcalcifications: can they change after neoadjuvant chemotherapy? *Breast J*. 2006;12(1):86-7.
34. Yeh E, Slanetz P, Kopans DB, Rafferty E, Georgian-Smith D, Moy L, et al. Prospective comparison of mammography, sonography, and MRI in patients undergoing neoadjuvant chemotherapy for palpable breast cancer. *AJR Am J Roentgenol*. 2005;184(3):868-77.
35. Schelling M, Avril N, Nährig J, Kuhn W, Römer W, Sattler D, et al. Positron emission tomography using [(18)F]Fluorodeoxyglucose for monitoring primary chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2000;18(8):1689-95.
36. Kaufmann M, von Minckwitz G, Mamounas EP, Cameron D, Carey LA, Cristofanilli M, et al. Recommendations from an international consensus conference on the current status and future of neoadjuvant systemic therapy in primary breast cancer. *Ann Surg Oncol*. 2012;19(5):1508-16.
37. Adair FE. The use of estrogens and androgens in advanced mammary cancer: clinical and laboratory study of one hundred and five female patients. *Journal of the American Medical Association*. 1949;140(15):1193.
38. Huseby RA, Thomas LB. Histological and histochemical alterations in the normal breast tissues of patients with advanced breast cancer being treated with estrogenic hormones. *Cancer*. 1954;7(1):54-74.
39. Emerson WJ, Kennedy BJ, Taft EB. Correlation of histological alterations in breast cancer with response to hormone therapy. *Cancer*. 1960;13:1047-52.

40. Walker KJ, Price-Thomas JM, Candlish W, Nicholson RI. Influence of the antioestrogen tamoxifen on normal breast tissue. *Br J Cancer*. 1991;64(4):764-8.
41. Bland KL, Gass J, Klimberg VS. Radiofrecuencia, crioablación y otras modalidades para la ablación del cáncer de mama. *Clínicas quirúrgicas de Norteamérica*. 2007;(2):539–550.
42. Noguchi M, Earashi M, Fujii H, Yokoyama K, Harada K, Tsuneyama K. Radiofrequency ablation of small breast cancer followed by surgical resection. *Journal of surgical oncology*. 2006;93(2):120–128.
43. Sabel MS, Kaufman CS, Whitworth P, Chang H, Stocks LH, Simmons R, et al. Cryoablation of early-stage breast cancer: work-in-progress report of a multi-institutional trial. *Ann Surg Oncol*. 2004;11(5):542-9.
44. von Minckwitz G, Untch M, Blohmer J-U, 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;30(15):1796-804.
45. Semiglazov VF, Semiglazov VV, 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;110(2):244-54.
46. Ellis MJ, Ma C. Letrozole in the neoadjuvant setting: the P024 trial. *Breast Cancer Res Treat*. 2007;105 Suppl 1:33-43.
47. 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 intrinsic subtype--ACOSOG Z1031. *J Clin Oncol*. 2011;29(17):2342-9.
48. Gralow JR, Burstein HJ, Wood W, Hortobagyi GN, Gianni L, von Minckwitz G, et al. Preoperative therapy in invasive breast cancer: pathologic assessment and systemic therapy issues in operable disease. *J Clin Oncol*. 2008;26(5):814-9.
49. Pu RT, Schott AF, Sturtz DE, Griffith KA, Kleer CG. Pathologic features of breast cancer associated with complete response to neoadjuvant chemotherapy: importance of tumor necrosis. *Am J Surg Pathol*. 2005;29(3):354-8.
50. Briffod M, Spyrtos F, Tubiana-Hulin M, Pallud C, Mayras C, Filleul A, et al. Sequential cytopunctures during preoperative chemotherapy for primary breast carcinoma. Cytomorphologic changes, initial tumor ploidy, and tumor regression. *Cancer*. 1989;63(4):631-7.
51. Polley M-YC, Leung SCY, McShane LM, Gao D, Hugh JC, Mastropasqua MG, et al. An International Ki67 Reproducibility Study. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2013;djt306.
52. Burcombe R, Wilson GD, Dowsett M, Khan I, Richman PI, Daley F, et al. Evaluation of Ki-67 proliferation and apoptotic index before, during and after neoadjuvant chemotherapy for primary breast cancer. *Breast Cancer Research*. 2006;8:R31.

53. Ingolf J-B, ss, Russalina M, Simona M, Julia R, Gilda S, et al. Can Ki-67 Play a Role in Prediction of Breast Cancer Patients' Response to Neoadjuvant Chemotherapy? BioMed Research International, BioMed Research International. 2014;2014:e628217.
54. Nishimae A, Nakano Y, Nishi T, Sawai Y, Yamazaki M, Inaji H. [Evaluation of Pre-Therapeutic Ki-67 as a Predictive Marker for Histological Response to Neoadjuvant Therapy in Breast Cancer]. Gan To Kagaku Ryoho. 2015;42(12):1491-3.