

TECNOLÓGICO DE MONTERREY



Posgrados Médicos

“Relación de mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* sobre parámetros clínico-patológicos en pacientes con cáncer de mama con alto riesgo de carcinoma hereditario en un centro del noreste de México”

Tesis que para obtener el grado de:

Especialista en

Anatomía Patológica

presenta:

Dulce María López Sotomayor

Gabriela Sofía Gómez Macías

Directora de tesis

Dione Aguilar y Méndez

Co-directora de tesis

Monterrey, Nuevo León, México

Septiembre, 2022

Resumen

Introducción: Los mayores causantes genéticos de carcinoma hereditario son mutaciones *BRCA1* y *BRCA2*. El actual trabajo, pretende determinar el valor del conocimiento del estado de los genes *BRCA1* y *BRCA2* sobre factores clínico-patológicos en pacientes mexicanas con cáncer de mama que tienen alto riesgo de carcinoma hereditario, con enfoque en TILs, respuesta patológica a la TNA, sobrevida libre de enfermedad y supervivencia global.

Métodos: Se incluyeron 168 pacientes con alto riesgo de carcinoma hereditario y cáncer invasor de mama. Se compararon a las pacientes con variantes patogénicas conocidas de *BRCA1* o *BRCA2* de las pacientes a las cuales no se le detectaron estas mutaciones o algún otro gen asociado al carcinoma hereditario.

Resultados: Ciento veintinueve pacientes (76.8%) no tenían mutaciones en los genes *BRCA1* o *BRCA2*, y del resto, a veinticuatro (14.3 %) se les identificó variante patogénica en el gen *BRCA1* y quince (8.9%) en *BRCA2*. La media de TILs en los pacientes sin mutación en *BRCA1* o *BRCA2* fue de 17.9 y en el grupo de pacientes con variantes patogénicas en estos genes fue de 23.6 ($p=0.06$). No hubo diferencias significativas entre la recurrencia y mortalidad por según el estado de *BRCA1* y *BRCA2*. De las pacientes con TNA, se observó pCR en veintinueve (39.7%) de las pacientes sin mutaciones y en dieciocho (66.7%) de las pacientes con mutaciones ($p=0.02$).

Discusión: La presencia de una variante patogénica de *BRCA1* o *BRCA2* en esta población es un factor predictivo independiente de respuesta a TNA. Aunque hay tendencia al alza en los TILs, dependiendo del estado de este gen, no se encontraron diferencias

significativas. No se encontraron diferencias en cuanto a pronóstico dependiendo del estado mutacional. Por otro lado, aunque los TILs altos resultaron ser un factor predictivo de respuesta a TNA, no es independiente. Solamente un grado histológico bajo y los carcinomas de subtipo luminal, a comparación de los TN, están relacionados a mejor supervivencia global, aunque no es independientes de otros factores.

Glosario de abreviaciones

- IHQ: inmunohistoquímica.
- CM: cáncer de mama.
- TILs: linfocitos infiltrantes de tumor.
- strTILs: linfocitos infiltrantes de tumor, estromales.
- itTILs: linfocitos infiltrantes de tumor, intratumorales.
- PD-L1: ligando 1 de muerte programada.
- RT: radioterapia.
- QT: quimioterapia.
- AJCC: American Joint Committee on Cancer.
- NCCN: National Comprehensive Cancer Network.
- BCRF: Breast Cancer Research Foundation.
- ISH: hibridación in-situ.
- FISH: hibridación in-situ fluorescente.
- CISH: hibridación in-situ cromogénica.
- TN: triple negativo.
- RE: Receptor de estrógeno.
- RP: Receptor de progesterona.
- RH: Receptor hormonal.
- HER2: Human Epidermal Growth Factor Receptor 2.
- OMS: Organización Mundial de la Salud.
- ESMO: Sociedad Europea de Oncología Médica.

- IMC: índice de masa corporal.
- BRCA1: Breast cancer gene 1.
- BRCA2: Breast cancer gene 2.
- TNA: terapia neoadyuvante.
- TNE: tipo no especial.
- ASCO: American Society of Clinical Oncology.
- CAP: Collage of American Pathologists.
- CDIS: carcinoma ductal in situ.
- BI-RADS: Breast Imaging Reporting and Data System.
- LT: linfocitos T.
- LB: linfocitos B.
- CD: cluster of differentiation.
- MLPA: Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification.
- SNC: Sistema nervioso central.
- AD: autosómica dominante.
- RMN: resonancia magnética nuclear.
- US: ultrasonido.
- PARP: polimerasa difosfato-ribosa poliadenosina.
- EUA: Estados Unidos de América.
- CK: citoqueratina.
- PCR: reacción en cadena de la polimerasa.
- pCR: respuesta patológica completa.
- CR: Cociente de riesgo.

- VEGF: factor de crecimiento vascular endotelial.
- SSO: Society of Surgical Oncology.
- HSJ: Hospital San José.
- OR: odds ratio.
- NA: no aplica.
- IC: intervalo de confianza.
- DFS: disease-free survival.
- OS: overall survival.

Tabla de Contenidos

Resumen.....	3
Glosario de abreviaciones	6
Tabla de Contenidos	9
Índice de tablas	14
Índice de figuras.....	15
Capítulo 1 – Planteamiento del problema.....	16
Antecedentes	17
Planteamiento del problema.....	18
Objetivos Generales y Específicos.....	22
Objetivo General.....	22
Objetivos Específicos.....	23
Hipótesis	23
Hipótesis nula.....	23
Hipótesis alterna (de trabajo)	24
Justificación	24
Alcance del Estudio	25
Capítulo 2 – Marco teórico	26
Generalidades del cáncer de mama.....	27

Epidemiología	27
Multifocalidad y bilateralidad	28
Etiopatogenia	28
Tamizaje	29
Diagnóstico clínico	30
Diagnóstico por imagen	30
Biopsia por aguja de corte grueso	32
Patología del cáncer de mama	33
Precusores	33
Patología del cáncer invasor de la glándula mamaria	33
Inmunohistoquímica	35
Clasificación molecular	38
Tratamiento y pronóstico	40
Tratamiento	40
Pronóstico	41
Patología en neoadyuvancia	42
Factores pronósticos patológicos del carcinoma de mama	44
Microambiente tumoral	46
TILs	47
Relevancia de los TILs	48

Carcinoma hereditario.....	49
Métodos de estudio de los genes asociados al carcinoma de mama	54
BRCA1 y BRCA2.....	56
Mutaciones patogénicas de BRCA1 y BRCA2 en México	61
Capítulo 3 – Metodología	63
Diseño del estudio.....	64
Descripción del estudio.....	64
Fundamentos para el diseño del estudio	64
Fundamentos para la población de pacientes.....	64
Fundamentos para los factores de estratificación	65
Fundamentos para la obtención de muestras biológicas (tejidos).....	66
Materiales y métodos	66
Pacientes	66
Muestra	67
Criterios de Inclusión.....	68
Criterios de Exclusión.....	68
Criterios de Suspensión.....	69
Evaluación del estudio	69
Formas de consentimiento informado y registro de selección.....	69
Historia clínica y datos demográficos.....	69

Exploración física	70
Estudios de laboratorio y gabinete	70
Metodología	71
Pacientes	71
Muestras de los tumores.....	77
Inmunohistoquímica	77
TILs y grado de respuesta patológica	78
Estado de BRCA.....	79
Puntos de corte de supervivencia	80
Técnicas de análisis estadístico.....	80
Programas por utilizar para análisis de datos.....	81
Consideraciones éticas	81
Cumplimiento con las Leyes y Regulaciones	81
Consentimiento Informado	82
Comité de Ética.....	82
Confidencialidad	82
Riesgos previsibles y probables	82
Protección frente al riesgo físico y/o emocional.....	83
Capítulo 4 – Resultados	84
Características de la muestra.....	85

TILs.....	92
Respuesta a la TNA	95
Análisis de supervivencia	100
Capítulo 5 – Análisis y discusión de resultados.....	104
Características generales.....	105
CM asociado y no asociado a variantes patogénicas de <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i>	106
TILs.....	108
Respuesta a la TNA	111
Supervivencia.....	113
Capítulo 6 – Conclusión.....	117
Referencias.....	119

Índice de tablas

Tabla 1. Categorías BI-RADS.	32
Tabla 2. Formación tubular y pleomorfismo, partes de la escala de Nottingham para valoración del grado tumoral.	35
Tabla 3. Valoración de HER2 por IHQ.	37
Tabla 4. Formación tubular y pleomorfismo, partes de la escala de Nottingham para valoración del grado tumoral.	38
Tabla 5. Variables	72
Tabla 6. Características de todas las pacientes incluidas	88
Tabla 7. Características de las pacientes con mutación en la línea germinal de BRCA1 o BRCA2.....	89
Tabla 8. TILs dicotómico según tipo molecular	93
Tabla 9. Características de pacientes con TNA	97
Tabla 10. Análisis univariado y multivariado respuesta patológica completa.....	100
Tabla 11. Análisis univariado para supervivencia libre de enfermedad	103
Tabla 12. Análisis univariado para supervivencia global	103

Índice de figuras

Figura 1. Barras de distribución de TILs en relación con los tipos moleculares	93
Figura 2. Barra de distribución de TILs en relación con los tipos moleculares y presencia o no de mutación en BRCA1 y BRCA2	94
Figura 3. Asociaciones entre respuesta a TNA, y estado de BRCA1 y BRCA2 en la línea germinal	98
Figura 4. Asociaciones entre respuesta a TNA y TILs dicotómico	99
Figura 5. Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global según estado en la línea germinal de los genes BRCA1 y BRCA2	101
Figura 6. Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global según respuesta a TNA	101
Figura 7. Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global según tipo molecular	102
Figura 8. Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global según TILs	102

Capítulo 1 – Planteamiento del problema

Antecedentes

Es bien conocida la relevancia clínica de evaluar genéticamente a pacientes que, por sus antecedentes heredofamiliares, características clínicas o patológicas, es probable que sean portadoras de variantes patogénicas en distintos genes asociados al cáncer de mama (1). También se sabe que los tumores de las pacientes con CM que tienen mutación (o variante patogénica) en la línea germinal de BRCA, son heterogéneos, siendo generalmente TN los asociados a *BRCA1* y luminales en pacientes con mutación de *BRCA2*.

Por otro lado, se conoce la importancia de evaluar los TILs en los pacientes con CM TN y HER2 por su asociación positiva con supervivencia y pCR; por esto el Grupo de Trabajo Internacional de TILs (2) y la ESMO (3) recomiendan que este parámetro sea incluido en los reportes de patología de estos tipos moleculares de carcinomas. Aún no está aún demostrada la utilidad clínica de su evaluación en los CM luminales, ya que hay estudios con resultados divergentes por lo que se necesita mayor investigación en este ámbito (4) e incluso las guías mexicanas confirman esta información (5). Se han estudiado los TILs en pacientes con mutación en la línea germinal de los genes *BRCA1* y *BRCA2*, encontrando hallazgos similares a los esporádicos en cuanto a su significancia pronóstica y su presencia sigue estando altamente relacionada al tipo molecular que sean (6). En pacientes mexicanas, se han incluso tipificado los TILs en pacientes con tumores TN (7), donde se ha encontrado la asociación antes descrita, sin embargo, no se han hecho estudios en relación a si tienen mutación en la línea germinal de *BRCA1* o *BRCA2*.

La valoración del resultado de la TNA por parte del patólogo es esencial para el pronóstico de los pacientes, ya que se ha visto que los casos que tienen adecuada respuesta tienen menor riesgo de recurrencia y mayor supervivencia (8). En pacientes en las que se han estudiado variantes patogénicas de *BRCA1* y *BRCA2*, se ha encontrado que los pacientes con mutación tienen mayor porcentaje respuesta patológica completa al tratamiento (9), y esto se ha asociado aún más en los tipos luminales con 33% de pCR, a diferencia de la población sin mutación donde solo el 5% la obtienen.

En relación al pronóstico, no se han encontrado diferencias de supervivencia en cuanto a supervivencia entre pacientes portadoras de variantes patogénicas de *BRCA1* y *BRCA2* y las que no (9).

Planteamiento del problema

En todos los cánceres existen factores pronósticos clínicos y patológicos (10); los clínicos incluyen exámenes físicos, de sangre y estudios de imagen, y los parámetros reportados por parte del laboratorio de patología incluyen el tamaño, tipo histológico, grado de diferenciación, extensión, invasión linfovascular, perineural, presencia de tumor en los bordes, entre otros, como los TILs (11). La etapa y el grado son los marcadores tradicionales y son útiles, pero de manera individual es difícil determinar la evolución de los tumores solo con estos parámetros (12).

El papel del patólogo en el diagnóstico del CM, ha evolucionado rápidamente en las últimas décadas; por ejemplo, con la aprobación del uso rutinario de inmunohistoquímica (marcadores de RE, RP y HER2) para el diagnóstico del subtipo molecular que se toma en cuenta para determinar el tratamiento más adecuado, y más recientemente, en la octava edición, se ha tomado en cuenta para la etapificación pronóstica de los pacientes según la AJCC (13). Además, actualmente los patólogos deben establecer el grado de respuesta en pacientes que reciben TNA (14) y valorar TILs en pacientes con carcinomas TN y HER2, debido a que ya hay suficiente evidencia de que tienen valor pronóstico (4).

Biológicamente el microambiente tumoral es importante en el desarrollo, invasión y metástasis de las neoplasias (15). Por ejemplo, los linfocitos juegan un papel importante en la erradicación y prevención de tumores por su tamizaje inmune (16), y es por esto que se comenzó a estudiar el infiltrado inflamatorio dentro de los tumores (15).

Los TILs se definen como el porcentaje del área de la cama tumoral con presencia de linfocitos (2). Hasta la fecha, se han descrito dos tipos de TILs, los intratumorales que se refieren a los linfocitos que están en contacto directo con las células malignas, y los estromales que se refieren a los linfocitos que están en el estroma del área tumoral (17). El segundo es el que ha ganado mayor auge y evidencia por su reproducibilidad en el área de los diagnósticos oncológicos de cáncer de mama. Además, existen ya recomendaciones para la valoración correcta los strTILs, las cuales fueron escritas por el Grupo de Trabajo internacional de Biomarcadores en Inmuno-Oncología (18). En este documento, de ahora en adelante, el término TILs se referirá a los strTILs.

La mayor evidencia de la relevancia de los TILs está en los carcinomas TN y esto se ha estudiado de manera extensa en la terapia adyuvante; para estos pacientes, una mayor cantidad de TILs se ha visto asociado de manera positiva a supervivencia libre de enfermedad invasora, metástasis a distancia y supervivencia global, con una disminución del riesgo de 14, 17 y 17, respectivamente con cada 10% de incremento de TILs, y esto fue independiente de otros factores pronósticos clásicos (2). Por otro lado, su relevancia también está descrita en pacientes que reciben neoadyuvancia ya que se asocia con mayor respuesta a tratamiento, encontrando que pacientes con altos TILs tienen respuestas completas en el 50% de los casos, a diferencia de los que tienen TILs bajos intermedios con respuestas completas solamente en 31% de los casos (19). Por otro lado, la evaluación de TILs en enfermedad residual (post-neoadyuvancia) se ha visto también con utilidad clínica porque cada aumento en el 10% de los TILs, condiciona una reducción del 21% en el riesgo de metástasis y muerte (20).

Los TILs también tienen evidencia de relevancia en el pronóstico en los tumores HER2 positivos. Una mayor cantidad de TILs está relacionada positiva e independientemente con supervivencia libre de enfermedad a distancia con una reducción del riesgo de 27% por cada incremento de los TILs de 10% (21)(22); por otro lado, otro estudio encontró asociación positiva entre los TILs y la supervivencia libre de enfermedad (23). Además, en el contexto de neoadyuvancia, se observó mayor tasa de respuesta completa en el grupo con TILs altos (24).

En los CM luminales, la evidencia de su utilidad es limitada; existen estudios donde no se encuentra asociación entre TILs y el pronóstico (25)(26)(20)(27)(28), pero un estudio

encontró que entre mayores TILs había mayor asociación con características clínico-patológicas no favorables (Ki-67 elevado y RE bajos) aunque no se encontró asociación con mortalidad o supervivencia libre de enfermedad (29). Por el contrario, se ha encontrado que a mayor cantidad de TILs, la supervivencia aumenta pero solamente en los tumores de alto grado y, en cambio, tienen un factor pronóstico negativo en los grados menores (23). Estos hallazgos inconsistentes pueden derivar de la heterogeneidad de este grupo, y los subtipos A y B pudieran tener diferencias en el significado de los TILs.

Los cánceres de pacientes con mutación en la línea germinal de *BRCA1* y *BRCA2* tienden a aparecer en pacientes jóvenes. Los asociados a *BRCA1* suelen ser TN y diagnosticarse en etapas avanzadas; estas características histopatológicas los hacen tumores agresivos. Por otro lado, los carcinomas de pacientes con mutación en *BRCA2* suelen ser luminales pero de alto grado (30). Los CM asociados a ambos genes, suelen tener abundante infiltrado inmune, sin embargo, existen pocos estudios que caractericen y cuantifiquen TILs en pacientes con mutación en la línea germinal de estos genes (6).

La TNA está indicada en pacientes con carcinoma inflamatorio, irresecable o inoperable, en pacientes con carcinomas HER2 o TN en los que el hallazgo de carcinoma residual da una guía de la terapia adyuvante, para realizar cirugías menos invasivas (conservadoras de piel y pezón y/o eliminar la necesidad de disección ganglionar axilar) y en pacientes en los que se prefiere demorar la cirugía (por ejemplo, para esperar resultados genéticos) (31). Por otro lado, la indicación de TNA no debe ser dada por marcadores de IHQ no rutinarios, TILs, ni perfil genómico (31), debido a la falta de estudios aleatorizados que apoyen estos manejos (32). Sin embargo, Arun et al. identificaron que la presencia de

mutación en *BRCA1* era un factor independiente de pCR, aunque el pronóstico era el mismo que en pacientes con *BRCA1* no mutado (33). Por otro lado, Grandal et al. encontraron que los carcinomas asociados a mutación de los genes *BRCA1* y *BRCA2* suelen tener mejores respuestas al tratamiento, y sobre todo en el subgrupo de los luminales, aunque tampoco identificaron diferencias en cuanto a pronóstico (9). A pesar de esto, la valoración del resultado de la TNA por parte del patólogo es esencial para el posterior manejo de los pacientes ya que, en la población en general, los pacientes con adecuada respuesta tienen menor riesgo de recurrencia y mayor supervivencia global (8).

Objetivos Generales y Específicos

Objetivo General

- Estudiar la relación de las mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* sobre parámetros clínico-patológicos (TILs, respuesta a terapia neoadyuvante y pronóstico) en pacientes con cáncer de mama con alto riesgo de carcinoma hereditario.

Objetivos Específicos

- Identificar si la presencia de mutaciones en la línea germinal de *BRCA1* y *BRCA2* tiene relación con el porcentaje de TILs.
- Identificar si la presencia de mutaciones en la línea germinal de *BRCA1* y *BRCA2* son un factor predictivo de respuesta a tratamiento neoadyuvante independiente.
- Identificar si la presencia de mutaciones en la línea germinal de *BRCA1* y *BRCA2* son un factor pronóstico (supervivencia libre de enfermedad y global) independiente.
- Identificar si el porcentaje de TILs son un factor predictivo de respuesta a tratamiento neoadyuvante y pronóstico (supervivencia libre de enfermedad y global) independiente.
- Identificar si la pCR es un factor pronóstico (supervivencia libre de enfermedad y global) independiente.

Hipótesis

Hipótesis nula

El estado en la línea germinal de *BRCA1* o *BRCA2* tiene relación al porcentaje de TILs, la respuesta a la TNA y el pronóstico (supervivencia libre de enfermedad y global) en pacientes con CM con alto riesgo de carcinoma hereditario.

Hipótesis alterna (de trabajo)

El estado en la línea germinal de *BRCA1* o *BRCA2* tiene relación al porcentaje de TILs, la respuesta a la TNA y el pronóstico (supervivencia libre de enfermedad y global) en pacientes con CM con alto riesgo de carcinoma hereditario.

Justificación

Hasta la fecha, se han realizado estudios que buscan definir la importancia del estado de *BRCA1* y *BRCA2* en pacientes no seleccionados con CM (9) y a veces con enfoque en pacientes con CM TN (34), sin embargo, su relevancia en poblaciones con alto riesgo de carcinoma hereditario y sin distinguir el tipo molecular ha sido poco estudiada, además de que se han incluido sobre todo pacientes tratadas con neoadyuvancia (9). En pacientes mexicanas, aunque hay estudios de la relevancia clínico-patológica del estado de estos genes en estas pacientes, no se han evaluado los TILs, la respuesta a TNA, ni el pronóstico (35)(36). Además, otros estudios de pacientes mexicanas se han enfocado solamente en poblaciones con CM TN (37) y diagnósticos a edad temprana (38). Solo se encontró un estudio sobre la evaluación de TILs en pacientes mexicanas (7), sin embargo no se especifica si se trataba de pacientes con alto riesgo de carcinoma hereditario, el estado de *BRCA1* o *BRCA2*, además de que solo se incluyeron a pacientes con CM TN.

Alcance del Estudio

Con esta investigación se pretendió determinar la relación de las mutaciones en los genes de *BRCA1* y *BRCA2* sobre los TILs, la respuesta a TNA y el pronóstico (supervivencia libre de enfermedad y global) en una población de pacientes con CM con alto riesgo de carcinoma hereditario. De forma secundaria, debido al alto porcentaje de subtipos luminales en la muestra analizada, se buscò evaluar el significado de los TILs en estos tumores. Por otro lado, por desarrollarse en un centro del noreste de México, es relevante para esta población en la que los estudios son escasos.

Capítulo 2 – Marco teórico

Generalidades del cáncer de mama

Epidemiología

En el 2020, el CM correspondió al 11.7% de las neoplasias malignas en el mundo, correspondiendo a la más frecuentemente diagnosticada tanto en hombres como en mujeres, y representando el 24.5% de las cánceres en mujeres (39), además de ser la mayor causa de muerte relacionada al cáncer en mujeres, con una mortalidad global de 13.2 personas por cada 100,000 habitantes (5). Existen zonas del mundo con mayor prevalencia que otras; los países del oeste tienen mayor incidencia que los de oriente (40)(39). En EUA, aunque las mujeres hispanas tienen menor incidencia que las blancas no-hispanas, se cree que un porcentaje importante de los casos hispanos están relacionados a mutaciones en la línea germinal de *BRCA1* o *BRCA2* (41)(42). En México, también es la causa más común de cáncer tanto en la población en general como en mujeres (39), y la incidencia aumentó de 10.76 a 26.1 casos por 100,000 mujeres mayores de 25 años del 2000 al 2013 (5) y un 52% del 2010 al 2019; suele presentarse a edades tempranas, en etapas avanzadas y con características clínico-patológicas de agresividad (37).

Los carcinomas en pacientes menores de 35 años son raros y suelen tener historias naturales más agresivas que el CM promedio (43). Por otro lado, el sobrepeso y obesidad han surgido como factores pronósticos, ya que se han asociado a poca supervivencia global y libre de enfermedad (44).

Multifocalidad y bilateralidad

Alrededor del 90% de los CM son unifocales, pudiendo ocurrir en cualquier cuadrante, pero tiene predilección por el superior externo. Puede haber bilaterales, ya sea sincrónicos o metacrónicos, y ocurren en el 2% de los casos (45); éstos han ido en aumento por la mayor expectativa de vida y por el uso de mamografías bilaterales (46), que detecta tumores pequeños. Los bilaterales tienden a presentarse en pacientes de mayor edad y suelen ser RH positivos, con morfologías parecidas entre ambos tumores (45). La concordancia de la IHQ en carcinomas bilaterales para RE, RP y HER2 es de 83, 80 y 90%, respectivamente, el tipo histológico es el mismo en el 73% de los casos y el grado concuerda en el 69% (45). Los sincrónicos, definidos como tumores diagnosticados de 1 a 12 meses después del primer tumor, dependiendo de la fuente (47)(48), son más frecuentes que los metacrónicos y representando el 93.3% de los bilaterales (45). Tanto en los sincrónicos como en los metacrónicos, generalmente el tumor índice se encuentra en una etapa mayor que el segundo (45). Los metacrónicos tienen una incidencia de hasta el 12% después de 10 años del caso índice (49).

Etiopatogenia

El CM es multifactorial. Se han asociado factores ambientales, reproductivos, hormonales y genéticos como principales factores de riesgo. El estilo de vida del nuevo mundo (dieta alta en calorías, rica en proteínas y grasas animales, sedentarismo, edad avanzada en el primer embarazo, pocos embarazos y menor periodo de lactancia) se ha

encontrado como un factor epidemiológico importante (44)(43). El consumo de alcohol de igual forma ha sido frecuentemente asociado a incremento del riesgo para CM, sobre todo del tipo luminal (43). Además, se ve más frecuentemente en mujeres con menarca temprana y nulíparas. La ingesta de hormonas esteroides exógenas también tienen un rol en el desarrollo del CM.

Se cree que la predisposición genética es uno de los mayores factores de riesgo, y es responsable de alrededor del 5-10% de los CM (40), y de estos, el 20-40% se le atribuyen a mutaciones de los genes *BRCA1* y *BRCA2* (40).

Tamizaje

Las evaluaciones físicas dirigidas al CM se deben de realizar cada 1-3 años en pacientes asintomáticas a partir de los 25 años de edad, y los estudios de radiología (mamografía con o sin ultrasonido) de manera anual o bianual a partir de los 40 años si tienen un riesgo promedio (<15%) (5).

Los pacientes con alto riesgo por historia familiar deben de iniciar sus evaluaciones médicas a partir de que se identifique este riesgo, pero no antes de los 21 años, considerando consejo genético, además de realizarse mamografía anual iniciando 10 años antes del familiar más joven diagnosticado con cáncer de mama (no antes de los 30 años y no después de los 40). Se puede recomendar resonancia magnética anual 10 años antes del familiar con cáncer de mama más joven, a partir de los 25 años y no después de los 40. Además, se pueden considerar estrategias de reducción de riesgo (5).

Para pacientes con riesgo aumentado por radioterapia previa: si son menores de 25 años, se debe de realizar chequeo anual 8 años después de la radioterapia; si tienen 25 años o más, se realizará revisión cada 6-12 meses después de 8 años de la RT y mamografía 8 años después de la RT, pero no antes de los 30 años. Se puede recomendar resonancia magnética 8 años después de la RT, pero no antes de los 25 años. En este escenario, se deben considerar estrategias de reducción del riesgo (50).

Además, para pacientes con riesgo elevado a 5 años, se deben de realizar evaluaciones clínicas cada 6-12 meses, mamografía anual y realizar estrategias de reducción de riesgo (50).

Diagnóstico clínico

Existen múltiples síntomas del CM, entre los que están: masa palpable, inversión o descarga del pezón, engrosamiento asimétrico o nodulaciones, cambios en la piel (piel de naranja, eritema, excoriación, costra, úlceras, retracción), dolor, masas axilares, síntomas relacionadas a implantes mamarios más de 1 año después de la cirugía (derrame, agrandamiento, masa o ulceración) (50).

Diagnóstico por imagen

Ya sea por tamizaje o por indicación por sintomatología, el mejor estudio para determinar la presencia de lesiones en la glándula mamaria, así como su adecuada

caracterización se realiza con mamografía, la cual puede estar acompañada de US y/o RMN dependiendo del contexto clínico, los hallazgos patológicos y por imagen (51).

La RMN es el método más sensible pero no el más específico por lo que se restringe su uso en pacientes con alto riesgo (portadoras de mutación de *BRCA1* o *BRCA2*, por ejemplo), pacientes con mamas densas o con diagnóstico de carcinoma de tipo lobulillar (52).

Cualquiera que sea el estudio de imagen realizado, existe un sistema para estandarizar el reporte de los hallazgos, tener adecuada comunicación con el clínico y saber cuál es el siguiente paso en el manejo dependiendo del resultado. Este sistema es el BI-RADS que la actualización más recientes es la 5ta edición publicada en 2013 (53).

BI-RADS

El reporte del sistema de BI-RADS para mamografía incluye la evaluación de la composición mamaria, la presencia de masas, calcificaciones, asimetrías, ganglios linfáticos intramamarios, lesiones en la piel, conductos dilatados y marcadores radiopacos. Además, las lesiones deben de incluir descriptores como lateralidad, cuadrante, localización respecto a la carátula del reloj, profundidad y distancia del pezón (53). Finalmente, y dependiendo de los hallazgos, a los reportes se les asigna una categoría que va del 0 al 6, cada una con su significado, porcentaje de riesgo y conducta clínica a seguir (Tabla 1) (50).

Tabla 1. Categorías BI-RADS.

Categoría	Significado	Riesgo de malignidad	Conducta clínica por seguir
0	No diagnóstico	2-10% (54)	Realizar más estudios de radiología
1	Negativo para lesiones	0%	Tamizaje rutinario
2	Hallazgo benigno	0%	Tamizaje rutinario
3	Probablemente benigno	<2%	Mamografía a los 6 meses
4	Sospechoso de malignidad	A: 2-10% B: 11-50% C: 51-94%	Realizar biopsia
5	Altamente sugestivo de cáncer	>94%	Realizar biopsia
6	Cáncer diagnosticado por biopsia	100% (55)	Cirugía, por lo general

Biopsia por aguja de corte grueso

Existen múltiples técnicas de obtención de tejido para estudio histológico, entre ellas están la biopsia por aspiración con aguja fina, la biopsia estereotáxica y la biopsia abierta (51). Lo preferible en la actualidad y en la mayoría de los escenarios es realizar una biopsia por aguja de corte grueso ya que es altamente sensible y específico para clasificar el CM. En ocasiones, esta técnica se realiza guiada por estudios de imagen, sobre todo por US (56). En caso de que se identifique un CM, lo indicado es realizar los marcadores de IHQ en el material de biopsia para determinar el mejor manejo a seguir (57).

Patología del cáncer de mama

Precursores

Como en otros sitios anatómicos, el CM tiene lesiones precursoras no invasoras que tienen posibilidad de progresar a carcinoma invasor (43).

Los CM lumbinales tienen como precursores no obligados la atipia epitelial plana, hiperplasia ductal atípica y el carcinoma ductal in situ. Para los carcinomas con negatividad para receptores hormonales, la adenosis microglandular y el carcinoma ductal in situ son los precursores (43).

Patología del cáncer invasor de la glándula mamaria

Estudio macroscópico

Al momento de hacer una evaluación macroscópica de los especímenes quirúrgicos de cáncer de mama, idealmente se debe de hacer correlación con estudios de imagen para determinar el número, localización y tamaño aproximado de las lesiones, y de esta manera realizar un muestreo adecuado (58). Posteriormente, el espécimen debe ser entintado y seccionado de manera seriada cada 0.5 cm para que la fijación sea adecuada. La mayoría de los tumores se pueden ver o palpar, y suelen tener una forma estrellada o nodular (43). Si existen varias lesiones y se encuentran cercanas, se debe de muestrear el tejido entre

ellas para determinar si se trata de una sola lesión o múltiples. Además de los tumores, se debe de muestrear la piel, el pezón y los márgenes (59).

Estudio microscópico

Microscópicamente, la morfología es muy amplia pero se clasifican según la arquitectura, características celulares y componente estromal, el más común siendo el TNE, aunque éste es un diagnóstico de exclusión (43). Cuando el 90% del tumor muestra características de algún tipo en específico, entonces se puede clasificar como un tumor puro, por ejemplo, lobulillar, mucinoso, metaplásico o tubular (43). Existen además los mixtos cuando la morfología especial no llega a ser el 90% (43).

El grado histológico se evalúa con la escala de Nottingham y valora el porcentaje de formación tubular, el pleomorfismo nuclear y el conteo mitótico; cada uno de estos factores se puntúa del 1 al 3 y la sumatoria determinará el grado (59). En la Tabla 2 se refieren las definiciones para cada una de las puntuaciones de la formación tubular y pleomorfismo nuclear. Para la puntuación del índice mitótico existen tablas en el protocolo de reporte del CAP, donde se indica, según el diámetro de campo del microscopio que se esté utilizando, el número de mitosis en 10 campos de alto poder que se necesitan para otorgar 1, 2 o 3 puntos (59).

Tabla 2. Formación tubular y pleomorfismo, partes de la escala de Nottingham para valoración del grado tumoral.

Característica	Puntuación	Definición
Formación tubular	1	>75% del área tumoral forma estructuras tubulares o glandulares
	2	10-75% del área tumoral forma estructuras tubulares o glandulares
	3	<10% del área tumoral forma estructuras tubulares o glandulares
Pleomorfismo nuclear	1	Núcleos pequeños con escaso aumento del tamaño a comparación de las células epiteliales normales de la glándula mamaria, contornos regulares, cromatina uniforme, poca variación en el tamaño
	2	Núcleos grandes a comparación de las células epiteliales normales de la glándula mamaria, cromatina abierta vesicular, nucléolo visible, moderada variabilidad en forma y tamaño
	3	Núcleo vesicular con nucléolo prominente frecuente, con marcada variación en forma y tamaño, y ocasionalmente formas grandes y bizarras

Inmunohistoquímica

En las últimas décadas, debido al avance en el área de la oncología mamaria, se han descubierto varios biomarcadores de relevancia pronóstica, además de que se utilizan para determinar la terapia más adecuada para la enfermedad. Actualmente, la IHQ para RHs (RE y RP), así como para HER2 son estudios de rutina básicos para el adecuado manejo de los pacientes con CM (60).

Para los RHs, la positividad nuclear de al menos el 1% de las células, en cualquier intensidad, se considera positiva (61). Esta positividad para RE predice beneficio de la terapia endocrina (60). A pesar de esto, en la última actualización de las guías de la

ASCO/CAP se ha hecho hincapié de que para los CM con positividad entre el 1 y 10%, la evidencia del beneficio de este tratamiento es poca, por lo que se deben de tomar otros factores en cuenta para realizar una decisión terapéutica (60).

HER2 es un miembro de la familia de receptores de crecimiento de tipo tirosina cinasa que, cuando se activa, afecta la proliferación y supervivencia celular (62). En alrededor del 15% de los CM su gen se encuentra amplificado y resulta en sobreexpresión de la proteína que condiciona que el tumor proliferen, las células adquieran la habilidad de movilizarse y que haya angiogénesis. Actualmente, la valoración de la amplificación de este marcador es de vital importancia ya que existen terapias dirigidas, como trastuzumab, para bloquear su funcionalidad que se han visto que mejoran la sobrevida (62). Se puede valorar tanto por IHQ como por técnicas de ISH, como CISH o FISH, pero al ser el primero más accesible se utiliza mayoritariamente (62). La IHQ se valora dependiendo del porcentaje de células con tinción de membrana (completa o incompleta) y de la intensidad de la tinción (Tabla 3). La combinación de estos factores da un resultado global de 0 hasta 3 cruces; se toma en cuenta positivo solamente en caso de resultar 3 cruces, negativo en 0 y 1 cruz, y en caso de resultar dos cruces es indeterminado y se debe de realizar ISH, FISH o repetir IHQ para confirmar o descartar la sobreexpresión (60).

Tabla 3. Valoración de HER2 por IHQ.

Resultado	Definición
Negativo (0+)	Sin tinción o tinción de membrana incompleta y débil en $\leq 10\%$ de las células tumorales
Negativo (1+)	Tinción de membrana incompleta y débil en $>10\%$ de las células tumorales, vista con un objetivo de bajo poder y en una población homogénea y continua de células invasoras
Indeterminado (2+)	Tinción de membrana completa, débil o moderada en $>10\%$ de las células tumorales o tinción de membrana completa e intensa en $\leq 10\%$ de las células tumorales, vista con un objetivo de bajo poder y en una población homogénea y continua de células invasoras
Positivo (3+)	Tinción de membrana completa e intensa en $>10\%$ de las células tumorales

El Ki-67 es una proteína nuclear que se encuentra en todas las fases del ciclo celular pero está activo en las fases G1, S, G2 y M, por lo que es un marcador de proliferación celular (63). El anticuerpo más comúnmente usado para su determinación es MIB-1 (60). El porcentaje de expresión de este marcador en las células tumorales es un parámetro importante para categorizar a los CM luminales en A y B, y esta división tiene valor pronóstico y predictivo (64)(63). Su uso no es universal ya que hasta la fecha no hay recomendaciones claras del punto de corte variando desde el 15 al 20% (65)(66), así como que su reproducibilidad es baja (67).

El receptor de andrógenos es un receptor hormonal nuclear que ha sido bien estudiado en el cáncer de próstata como contribuyente en el desarrollo y progresión de éste (68). Hay creciente evidencia de que tiene un rol en el CM ya que su expresión por medio de IHQ se ha asociado con mayor supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global (68). Sin embargo, su función parece ser compleja, por lo que aún no se realiza este estudio de manera rutinaria, aunque en el futuro podría ser de relevancia en algunas situaciones clínicas (68).

Clasificación molecular

Genéticamente el CM es altamente heterogéneo y las diferentes entidades se han clasificado en grupos dependiendo de su expresión génica, los cuales tienen pronósticos diferentes. Aunque en realidad esta clasificación se realiza con métodos moleculares avanzados, actualmente estos métodos son caros y no están disponibles en la mayoría de los sistemas de salud, por lo que se han utilizado biomarcadores de IHQ (RE, RP, HER2 y Ki-67) como subrogados para poder clasificarlos (69). Los grupos son 5 (70) y sus características de IHQ y clínicas se indican en la Tabla 4 (70).

Tabla 4. Formación tubular y pleomorfismo, partes de la escala de Nottingham para valoración del grado tumoral.

Tipo molecular	Características de IHQ				Características clínicas e histopatológicas
	RE	RP	HER2	Ki-67	
Luminal A	+	+	-	Bajo	Crecimiento lento, bajo grado y buen pronóstico
Luminal B (HER2 negativo)	+	- o bajo*	-	Alto*	Crecimiento rápido
Luminal B (HER2 positivo)	+	+/-	+	Alto o bajo	Crecimiento rápido y mal pronóstico
HER2 (no luminal)	-	-	+	Alto o bajo	Crecimiento rápido y mal pronóstico
TN	-	-	-	Alto o bajo	Común en pacientes con mutación en la línea germinal de <i>BRCA1</i> , jóvenes y afroamericanas

*Al menos alguno de los dos criterios

Hay estudios que han determinado que con el uso IHQ de manera aislada, se identifican correctamente el 94% de los TN, 92% de los HER2 y 100% de los luminales (71).

Para simplificar, y debido a que en algunos sistemas de salud no se realiza de rutina el Ki-67 tanto por el costo como por el detalle de que aún no está completamente validada ni estandarizada su valoración (67), se pueden dividir en 3 grandes grupos (9), los cuales tienen características moleculares definidas y que correlacionan consistentemente con los resultados de IHQ. Estos grupos son: luminales (RH positivos), HER2 enriquecidos (solo HER2 positivo) y TN (3 marcadores de IHQ negativos). Estos subtipos son relevantes ya que tienen pronósticos diferentes (72), además de que el manejo clínico varía (73).

Los luminales son definidos por la expresión de RHs y pueden o no ser positivos a HER2. La gran mayoría son de grados bajos o intermedios, y solamente el 9% son de alto grado (43). La vía de los CM luminales, se caracterizan sobre todo por ganancia del cromosoma 1q y pérdida del 16q (43). Estos tumores se dividen en luminales A y B, dependiendo de la expresión de RP, HER2 y Ki-67 (72). Los A, tienen alta prevalencia de mutaciones en *PIK3CA* (74).

Los HER2 se definirán en este trabajo como aquellos que solo sobreexpresan HER2, con negatividad para RHs (72). Éstos son típicamente de grado intermedio o alto y están asociados a CDIS de tipo comedo. Se caracterizan por pérdida del cromosoma 13q y ganancia de 11q (43).

Los TN se definen por la falta de expresión de RE, RP y HER2 por IHQ por lo que, hasta la fecha, no se pueden tratar con terapias dirigidas. El hallazgo de márgenes pujantes y necrosis geográfica, altamente sugestivo de este tipo molecular, aunque no es un

requisito. Éstos tienen usualmente un espectro de morfologías amplio y suelen ser poco diferenciado. Un subgrupo de estos tiene TILs altos, que se asocia a mejor respuesta a la TNA. Este tipo de tumores en realidad engloban a una gran cantidad de enfermedades heterogéneas que tienen diferencias moleculares y pronósticas importantes. Se pueden dividir en basales y no basales, dependiendo de su positividad o negatividad por IHQ para CK5/6, CK14, CK17 y EGFR, respectivamente, además, de que los basales tienen mutación en *TP53* y el 85% en *BRCA1* (72). (43); sin embargo, esta división aún no tiene un uso clínico para elección de tratamiento de QT o RT.

Se ha encontrado una variación en la frecuencia de subtipos moleculares dependiendo de la población; en población general, los CM TN corresponden a alrededor del 15% y los HER2 al 12%, a diferencia de pacientes jóvenes donde los CM TN corresponden al 30% y los HER2 positivos al 20% (43).

Tratamiento y pronóstico

Tratamiento

El tratamiento de CM es complejo y depende de la edad del paciente, estado hormonal, histología, tipo molecular y la etapa (73). En casos donde la enfermedad local es avanzada y en pacientes con enfermedad TN o HER2, se puede dar TNA con el objetivo de que la enfermedad sea operable y realizar tratamientos quirúrgicos conservadores (73); por otro lado, la TNA permite identificar a pacientes con tumor residual y en consecuencia con peor pronóstico (9).

Las pacientes con CM luminal, además de la QT, son elegibles para terapias hormonales ya sea médicas o quirúrgicas (73).

A los pacientes que se les hacen cirugías conservadoras, generalmente se indica radioterapia posterior (73).

Es importante mencionar que la presencia de sobreexpresión de HER2 determina que es altamente probable que haya una buena respuesta a inhibidores de esta proteína, como lo es el trastuzumab (73).

Como los CM TN no expresan los marcadores predictivos (RHs y HER2), que indicarían que responderán a tratamientos hormonales o anti-HER2, como trastuzumab, la gran mayoría de estos carcinomas y sobre todo cuando están en etapas tempranas, se tratan con neoadyuvancia (75).

Pronóstico

El pronóstico del CM varía dependiendo de muchos factores, entre los más estudiados se encuentran el tipo molecular, la etapa clínica y el grado histológico (76); los factores antes mencionados se ven reflejados en los estadios pronósticos que fueron reconocidos por la AJCC en su 8va. edición (13), haciendo que las diferencias en cuanto a supervivencia por etapa sean ahora siempre significativas (77). Por otro lado, los tratamientos para el CM han cambiado drásticamente en los últimos 40 años, lo que ha mejorado la sobrevida general de las pacientes, por el uso de terapias dirigidas (78).

En cuanto a los tipos moleculares, se ha encontrado que los que son RHs positivos y HER2 negativos tienen una supervivencia a 4 años de 92.5%, seguido de los que tienen

ambos marcadores positivos con 90.3%. Los de peor pronóstico son los TN con 77.7%, seguidos de los HER2 con 82.7% (76).

En cuanto al grado, múltiples estudios en diferentes instituciones han encontrado que el grado histológico correlaciona con el pronóstico (79). Por ejemplo, un estudio encontró que el CM con grado 1 tienen mejor supervivencia que los de grado 2 o 3 ($p < 0.0001$) (80).

Como ya se mencionó, cada vez más se usa la TNA, y aunque por sí sola no mejora la sobrevida (81)(82), en algunos estudios la pCR ha mostrado ser un subrogado de la supervivencia libre de enfermedad y global (83).

Patología en neoadyuvancia

Tanto el porcentaje del carcinoma residual posterior a TNA como las características histológicas, ya sea en ganglios linfáticos o en la cama tumoral, proveen información pronóstica importante, por lo que la valoración exhaustiva de estos especímenes es relevante (9).

Macroscópicamente, cuando los pacientes tienen TNA, el tumor suele verse diferente a los tejidos vírgenes a tratamiento (84). Lo anterior es porque en un importante porcentaje de casos hay una respuesta completa o parcial al tratamiento, que se traduce en desaparición total o fragmentada del tumor, respectivamente, además de que hay cambios en el tejido debido a la terapia. Por esto, previo a la valoración macroscópica, es preferible conocer si el paciente tuvo TNA y revisar los estudios de imagen realizados tanto previos

a la TNA como posterior a ésta (84) para realizar correlación clínico-radiológica y trabajar estos especímenes de la manera adecuada.

El cambio histológico más importante es la disminución de la celularidad del tumor, que se refleja por la presencia de nidos pequeños y dispersos de células tumorales, que pueden ser bizarras o tener citoplasma vacuolado (43). Por otro lado, usualmente el conteo mitótico es menor que en la biopsia realizada previo al tratamiento (43). A pesar de lo anterior, el grado histológico postneoadyuvancia, así como los TILs siguen siendo un factor pronóstico relevante; incluso los TILs parecen no variar de manera significativa entre el tejido virgen y con TNA (9). En los caso de pCR, que ocurre en el 23.8% de los casos (9), el tumor se ve reemplazado por tejido fibroelástico edematoso, laxo y vascularizado con células inflamatorias crónicas y macrófagos (84).

Según la octava edición de la AJCC, se define como pCR a la ausencia total de carcinoma invasor tanto en la glándula mamaria como en los ganglios linfáticos después de la evaluación histopatológica. Puede identificarse CDIS residual y esto como quiera se catalogaría como pCR (85). Los pacientes con focos aislados de tumor en ganglios linfáticos no se catalogan como que tienen pCR. En resumen, la clasificación de la Etapa Patológica para ser considerada como pCR, tendría que ser ypT0N0 o ypTisN0 (13).

La valoración de la respuesta es importante ya que existen múltiples estudios que asocian la pCR con una reducción del riesgo de un evento (OR: 0.31) y la probabilidad de muerte (OR: 0.22) (14).

El índice de carga tumoral residual fue desarrollado en el MD Anderson Cancer Center (86); está clínicamente validado y se debe de incluir en el reporte de patología en pacientes que recibieron TNA. Se valora por medio de una calculadora disponible en la

web (87) que toma en cuenta el tamaño de la cama tumoral, su celularidad y el porcentaje del tumor que es in situ, así como el número de ganglios linfáticos involucrados y el tamaño de la metástasis mayor. Esta calculadora arroja el índice de carga tumoral como un número continuo a partir del 0, además de una categoría del 0 al III que indica cuánto tumor residual hay. La categoría 0 indica que no hay tumor residual (pCR), el I enfermedad residual mínima, el II moderada enfermedad residual y el III extensa enfermedad residual. Cada una de éstas se asocia a cierto riesgo de recaída (88), por ejemplo, para un índice de carga tumoral residual 0, I, II y III, la supervivencia libre de recaída a 5 años es de 92, 94, 90 y 58%, respectivamente, y a 10 años de 86, 85, 68 y 46%, respectivamente (88).

Factores pronósticos patológicos del carcinoma de mama

Cada vez más se identifican más factores importantes que ayudan a determinar, de manera más individualizada, el tratamiento y pronóstico de los pacientes. Entre los más clásicos para el CM están la edad, la etapa tumoral, el grado, tipo histológico, estado de los márgenes, y de los vasos sanguíneos y linfáticos de la cama tumoral (43).

La valoración de los RHs y de HER2 ya se ha vuelto tan importante que, junto con el grado histológico, es parte de los parámetros que se utilizan para la estadificación pronóstica de los pacientes (13).

La pCR a la TNA es un factor pronóstico positivo en los CM HER2 y TN, y el índice de carga tumoral establece el riesgo de recurrencia en los pacientes que no tuvieron pCR (88).

Por otro lado, en algunos países ya se utilizan perfiles de expresión genética para decisiones en cuanto a tratamiento con QT en pacientes con CM luminales que no tengan metástasis a ganglios linfáticos (89). Según los resultados de estos estudios, los pacientes de alto riesgo se benefician de QT mientras que los de bajo riesgo pueden no recibirla (89). Existen muchas marcas de las firmas genéticas, sin embargo, las únicas que tienen nivel de evidencia 1A son MammaPrint y Oncotype DX (90)(91); ambos están recomendados por la ASCO y ESMO (90).

Oncotype DX es un PCR que analiza 21 genes utilizando tejido fijado en formol e incluido en parafina. Se puede realizar en pacientes con CM luminales, negativos a HER2 y con un involucro máximo de 3 ganglios linfáticos regionales (91). El resultado es un puntaje del 0 al 100 que predice la recurrencia a distancia en 9-10 años, así como el beneficio esperado con la QT (90)(91). Los pacientes se dividen en riesgo bajo (<18), intermedio (18-31) y alto (>31), con probabilidad de recurrencia a distancia de 17, 28 y 49%, respectivamente (90).

MammaPrint, un estudio de secuenciación de segunda generación que analiza 70 genes utilizando tejido fijado en formalina e incluido en parafina. Se puede utilizar en pacientes etapas I o II, de tumores ≤ 5 cm y con involucro máximo de 3 ganglios linfáticos (91). Este panel, arroja un resultado en escala continua, además del subtipo molecular. Los pacientes se dividen en bajo y alto riesgo (90), con 1.3% y 11.7% de riesgo de recurrencia a 5 años, respectivamente (90)(91)(92).

Microambiente tumoral

Se le conoce como microambiente tumoral a las células y moléculas que están dentro o adyacentes al tumor; son relevantes ya que contribuyen al desarrollo, progresión y metástasis de los carcinomas. Las células son capaces de comunicarse entre ellas y de manera bidireccional con las células tumorales (93); las que conforman este microambiente, y que ya han sido estudiadas en el CM son: fibroblastos, células endoteliales, adipocitos, y células del sistema inmune innato y adaptativo (93).

En cuanto a los fibroblastos, la presencia de un foco fibrótico, definido como una reacción estromal exagerada de >1 mm dentro del tumor, se asocia con un CM con comportamiento agresivo (43).

Las células endoteliales tumorales tienen rol en la angiogénesis y modulan la respuesta inmune del CM. Con su proliferación, las células tumorales pueden obtener el oxígeno y nutrientes necesarios para su crecimiento. La proliferación de estas células se da en ambientes hipóxicos y gracias a factores de crecimiento secretados tanto por las células tumorales como por las células acompañantes no neoplásicas. Por otro lado, se ha visto que estas células tienen regulación a la alza de genes como colagenasas que promueven la progresión y metástasis (93).

Los adipocitos, diferenciados en adipocitos asociados al cáncer, secretan productos como IL-6, VEGF, entre otros, que promueven invasión y metástasis (93).

La presencia de infiltrado inflamatorio refleja la respuesta inmune del paciente contra el tumor (15). Las características del infiltrado inflamatorio tumoral también se ha visto que representan un factor pronóstico. Los macrófagos han sido estudiados y se ha

determinado que los activados clásicamente (M1) producen citocinas antitumorales, a diferencia de los alternativamente activados que producen citocinas anti-inflamatorias que apoyan la progresión tumoral. Por otro lado, los linfocitos han sido ampliamente estudiados en el CM (94).

TILs

Para valorar los TILs adecuadamente, se recomienda seguir la guía del consenso del Grupo de Trabajo Internacional de Inmuno-Oncología (18). Los strTILs representan el infiltrado linfocitario en el estroma que se encuentra dentro del carcinoma. El valor se da tomando en cuenta el porcentaje del área estromal (excluyendo el área de las células tumorales) que está ocupado por linfocitos y/o células plasmáticas, excluyendo los agregados linfoides para esta valoración. Se debe de realizar sobre cortes teñidos con hematoxilina y eosina, a 20-40x, ya sea en biopsias o especímenes quirúrgicos y en la zona más representativa. Se evalúa como un parámetro continuo y en una sola laminilla (18). Es importante mencionar que el infiltrado tumoral es heterogéneo dentro de un mismo paciente por lo que hay estudios que han evaluado tanto los TILs promedio, como de hotspot (95). Se ha demostrado que los TILs tienen alta reproducibilidad con una concordancia interobservador de entre el 80 y 90% (96).

La determinación de un punto de corte de TILs para dividir entre bajos y altos es difícil ya que, en los múltiples estudios centrados en este tema, este ha sido variable. Existen algunos investigadores que los dividen en bajo, intermedio o alto, definidos por

<10, 10 a 40 y >40%, respectivamente, mientras que otros autores definen el punto de corte dicotómico entre 30 y 60% (97)(98), aunque la mayoría utilizan el punto de corte de 50%.

En el CM, se ha encontrado que este infiltrado inflamatorio se compone principalmente de LT, tanto CD4+ como CD8+ (99)(7). Algunos estudios han encontrado que a mayor cantidad de LT CD8+ hay mayor supervivencia (27)(100)(101). Los LB también han sido estudiados pero su rol es controversial ya que representan una población heterogénea de células (102)(103), aunque, por lo general, se han visto asociados con buen pronóstico (104).

Relevancia de los TILs

La importancia de los TILs ha sido reportada desde 1992 (106). Se ha demostrado que a mayores TILs, hay mejor respuesta a tratamiento con antraciclinas y taxanos (107)(108). Estos hallazgos han sido muy contundentes en tumores TN y HER2 (3)(109). Además, los TILs han sido evaluados como una variable continua y cada incremento del 10% se asocia con reducción del riesgo de recurrencia a distancia del 13% (25). Aunque los CM con alta cantidad de TILs suelen conformar un grupo pequeño en la mayoría de los estudios (110)(25), los resultados siguen siendo estadísticamente significativos para que sean un factor pronóstico en estos pacientes.

La mayoría de los estudios concuerdan en que hay una falta de valor pronóstico de los TILs en los carcinomas luminales (111), sin embargo algunos estudios mencionan que el incremento de TILs se asocia significativamente a una mayor respuesta patológica posterior a quimioterapia (112), mientras que hay otros que lo han asociado a pobre

respuesta a tratamiento endocrino (113), así como disminución de la sobrevida global (114). Por otro lado, se ha encontrado que a mayor cantidad de TILs, la supervivencia aumenta pero esto solamente en los tumores de alto grado y, por el contrario, parecen ser un factor pronóstico negativo en los grados menores (23). También se ha encontrado la presencia de mutaciones en *BRCA1* o *BRCA2* se asocia a mayor respuesta patológica y TILs en carcinomas luminales (9).

La gran investigación y uso relativo a este marcador es porque es práctico, ya que no genera un costo extra porque se realiza sobre laminillas teñidas con hematoxilina y eosina que son las utilizadas de manera rutinaria en la evaluación de las biopsias o resecciones quirúrgicas, a diferencia del PD-L1 que es difícil de implementar en países en desarrollo por el costo adicional que se genera al solicitarlo (75).

Carcinoma hereditario

El CM es la neoplasia humana que más comúnmente tiene agrupamiento familiar (43). El carcinoma hereditario de mama representa el 5-15% de los tumores malignos de mama (115) y está relacionado a más de 25 genes que han sido ampliamente identificados (116). Mutaciones en estos genes de susceptibilidad al CM están presentes en la población en general con una prevalencia de 1 caso por cada 300 a 800 personas (117)(118). La mayoría de los genes de susceptibilidad al CM son genes supresores tumorales y los pacientes tienen un riesgo del 50% de transmitir esta información genética mutada a sus descendientes (1). Los genes que han sido más estudiados son de alta penetrancia, por

ejemplo *BRCA1* y *BRCA2*, y corresponden al 25% de los carcinomas hereditarios (116)(119), con un patrón hereditario autosómico dominante, generalmente con presentación a edades tempranas y durante la premenopausia (1). Los genes involucrados con mayor frecuencia están relacionados a vías de reparación del ADN y control del ciclo celular; además de los anteriormente mencionados están: *TP53*, *PTEN*, *STK11*, *CDH1*, *CHEK2*, *ATM*, *BRIP1*, *PALB2*, entre otros (1). Las mutaciones en estos genes generan pérdida de la función de las proteínas, causando inestabilidad genómica y descontrol del ciclo celular, lo que lleva a proliferación descontrolada de células tumorales (1). A pesar de esto, en la mayoría de las pacientes con alto riesgo de CM hereditario no se identifica alguna mutación en la línea germinal que sea causante de la patología; es posible que, aún no se identifiquen otros genes asociados al CM, debido a heterogeneidad, baja penetrancia y mecanismos recesivos y/o poligénicos (120). Por otro lado, se han realizado algunos estudios que intentan definir la genética de los CM familiares que no presentan mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2*, y se ha encontrado que hay subclases con diferencias en los patrones de amplificación genética (120); en análisis comparativos, este tipo de pacientes suelen presentarse a edades más avanzadas, no parecen tener patrón de herencia AD y parecieran ser genes de baja penetrancia (43).

Los pacientes de alto riesgo de CM se definen como aquellas personas con >20% de riesgo de padecer la enfermedad o un riesgo relativo de 4 o 5 veces más, al compararlas con la población en general. La identificación de estos pacientes es de vital importancia ya que se debe de realizar estudio extenso de mutaciones, así como tratamientos preventivos o comenzar tamizajes de manera más temprana que en la población en general. Además

esto ayuda a que otros familiares en riesgo sean identificados y que se actúe en consecuencia (121).

La identificación de los pacientes con alto riesgo de carcinoma hereditario se realiza por medio de una historia clínica exhaustiva, haciendo énfasis en la historia personal y familiar de tumores, tanto de la glándula mamaria como de otros sitios. Es de vital importancia es identificar el grado de los familiares afectados, el sexo y la edad al diagnóstico (121). Los criterios que indican la realización de prueba genética en pacientes con diagnóstico de CM son (121):

- Historia personal de CM con al menos uno de los anteriores:
 - ≤45 años al diagnóstico
 - 46-50 años si cumple alguno de los siguientes:
 - Historia familiar limitada o conocida
 - Antecedente personal de otro CM, diagnosticado a cualquier edad
 - Al menos 1 familiar cercano con CM, páncreas, próstata u ovario diagnosticado a cualquier edad
 - ≤60 años al diagnóstico y de tipo TN
 - Cualquier edad, con cualquiera de los siguientes:
 - Ancestros judíos Askenazi
 - Al menos 1 familiar con cáncer de:
 - Mama diagnosticado a los 50 años o menos
 - Ovario
 - Páncreas
 - Metastásico

- Histología cribiforme o intraductal
- Grupo de alto o muy alto riesgo para cáncer de próstata
 - 3 o más diagnósticos de CM en el paciente y/o familiares cercanos
 - Diagnóstico de CM en hombre a cualquier edad

Como se puede observar, otros tumores asociados a las variantes patogénicas en genes relacionados al CM son los de ovario, páncreas y próstata (121).

Los genes de riesgo de cáncer se pueden categorizar según su penetrancia y la frecuencia en la población. La penetrancia se refiere al estimado de que el cáncer se presente en un genotipo específico, o dicho de otras manera, la probabilidad de que se diagnostique cáncer en un paciente con la variante genética específica (1).

Generalmente las variantes de riesgo muestran un impacto proporcional inverso: variantes raras con alta penetrancia y variantes comunes (hasta el 50%) con poca penetrancia que se comportan en una manera poligénica (1). Las variantes de alto riesgo confieren un riesgo de más de 5 veces, las moderadas de 1.5-4 y las de bajo 1.5 veces (37).

Entre los genes de alta penetrancia incluyen *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *PTEN*, *CDH1* y *STK11* (1). Entre los genes de moderada penetrancia que confieren riesgo para CM están *CHEK2*, *ATM*, *PALB2*, *BRIP1*, *NBN*, *NF1*, *BARD1*, *RAD51C* y *MSH6* (37); las variantes patogénicas en *ATM*, *PALB2*, *RAD51C* y *BRIP1* corresponden al 67% de las no-*BRCA1/2* (37) en pacientes con CM TN con alto riesgo de carcinoma hereditario. Las variantes de baja penetrancia corresponden al 18% del riesgo relativo familiar (122).

TP53 es uno de los genes supresores tumorales más estudiados. Se localiza en el cromosoma 17p13.1 (1). Tiene una función importante en el control del ciclo celular y apoptosis, y provee habilidades a la célula para reparar el ADN. Las mujeres con el

síndrome de Li-Fraumeni tienen 100% de riesgo para desarrollar CM, y los hombres un 73%. Además del CM, también se asocia a sarcomas, tumores cerebrales, adrenocorticales, pulmonares, pancreáticos, prostáticos, ováricos, linfoma, leucemia y melanoma. Los pacientes que portan variantes patogénicas de este gen deben realizarse RMN de manera anual a partir de los 20 años y mamografía a partir de los 30. Además se debe sugerir mastectomía reductora de riesgo (1).

El síndrome de Cowden se causa por mutación en la línea germinal del gen supresor tumoral, PTEN, que se localiza en el cromosoma 10q23.31. Estos pacientes tienen alto riesgo de CM y con presentación temprana. Además, tienen asociación con cáncer de tiroides, endometrio, hamartomas, macrocefalia y lipomas. En estos pacientes, el tamizaje mama debe de iniciar a los 25 años de manera anual, y agregar RMN y mamografía a partir de los 30-35 años. Se debe de considerar realizar mastectomía reductora de riesgo (1).

El gen *CDHI* se localiza en el cromosoma 16q22.1, codifica una proteína responsable de la adherencia célula a célula y funciona como un supresor de la invasión. Además de estar asociado al cáncer gástrico difuso hereditario a edad temprana, confiere un riesgo relativo de 6.6 veces para CM, sobre todo del tipo lobulillar. Por otro lado, parecen tener mayor riesgo de carcinoma colorrectal. A los pacientes con estas mutaciones, se les recomienda realizar RMN a partir de los 30 años y es sensato discutir la mastectomía profiláctica, así como la gastrectomía parcial (1).

El gen supresor tumoral *STK11* del cromosoma 19p13.3 regula el ciclo celular y la apoptosis. Mutaciones en este gen causan el síndrome de Peutz-Jeghers, que se caracteriza por pólipos hamartomatosos intestinales y pigmentación mucocutánea. Además, el riesgo de CM a los 60 años es de 43%, y se asocia a otros carcinomas gastrointestinales y

pancreáticos, así como tumores de los cordones sexuales y adenocarcinoma de tipo gástrico del cérvix; el riesgo de cualquier tipo de cáncer en este síndrome es del 85%. Para estos pacientes se recomienda realizar RMN y mamografía a partir de los 35 años. Las cirugías profilácticas pueden ser discutidas de manera individual (1).

En cuanto a los genes con moderada penetrancia, el riesgo de padecer CM en variantes patogénicas de *PALB2* es de 47%, y de *ATM* y *CHEK2* de 27%. Según guías de la ASCO, ASTRO y SSO, estos pacientes deben realizarse RMN y mamografía anual (1).

Además del beneficio al caso índice, la detección de las variantes de riesgo para CM ayuda a la toma de decisiones preventivas en toda la familia.

Debido al costo y logística, en ciertas regiones del mundo, incluyendo México, es difícil realizar las pruebas genéticas (115).

Métodos de estudio de los genes asociados al carcinoma de mama

En caso de estar indicado un análisis de susceptibilidad genética por sospecha clínica, se debe realizar estudio para variantes genéticas en la línea germinal. Lo anterior se puede realizar con una muestra de sangre (analizando ADN de leucocitos) o con muestra de saliva obtenida de la mucosa oral (analizando células epiteliales) (1).

En la práctica existen 3 tipos de pruebas utilizadas: secuenciación de primera generación con la técnica de Sanger, secuenciación de segunda generación y MLPA. Existen además otras metodologías menos usadas como el análisis de pruebas truncadas y la desnaturalización de cromatografía líquida de alto rendimiento. La secuenciación de primera generación es laboriosa, cara y requiere grandes cantidades de ADN; entre sus

limitaciones está que no detecta desarreglos grandes por lo que ha resultado en falsos negativos en alrededor del 12% de los pacientes con mutaciones en *BRCA1* o *BRCA2*. En la práctica esta técnica solo se utiliza cuando se sabe la alteración genética específica presente en la familia y ya ha sido posible detectarla con esta técnica. La secuenciación de segunda generación es la técnica más empleada actualmente ya que se busca entre un panel multigenético y de manera simultánea variantes en genes de moderada a alta penetrancia por lo que se optimizan costos, además de que detecta alteraciones en el número de copias. Entre sus limitaciones está que no detecta algunas inserciones o deleciones grandes y que ha encontrado variantes de significado indeterminado que deben de seguirse estudiando para determinar si en realidad confieren susceptibilidad al CM. La técnica MLPA es un PCR múltiple que identifica número de copias anormales en diferentes secuencias del ADN; se utiliza frecuentemente en investigación de deleciones, sobre todo de *BRCA1*, *BRCA2* o *TP53* (1).

Ya que todas estas tecnologías son caras y no fácilmente accesibles en todos los centros sanitarios, se han hecho esfuerzos para realizar paneles dirigidos a poblaciones específicas, que pretenden estudiar las variantes más comunes y relevantes. Por ejemplo, Weitzel (41) desarrolló un panel de 114 variantes significativas en los genes *BRCA1* y *BRCA2*, con deleciones/inserciones y mutaciones puntuales que se utiliza en la plataforma MassArray de Sequenom. Hasta 2015 se habían estudiado alrededor de 1500 muestras y se determinó una sensibilidad del 80%, al compararlo con la secuenciación completa de estos dos genes, además de que tiene una especificidad del 100%. Esto ha sido beneficioso para los pacientes que tienen acceso limitado a servicios de salud ya que este panel tiene un

costo de solamente 50 dólares americanos (35), que corresponde al 4% del costo de una secuenciación completa.

Los resultados de las pruebas genéticas pueden ser clase 1, 2, 3, 4 o 5. La 1 representa el hallazgo de una variante benigna, la 2 a una variante probablemente benigna, la 3 a variante de significado indeterminado, la 4 a una probablemente patogénica y la 5 patogénica. Un resultado clase 3 se debe de revalorar frecuentemente ya que la mayoría se reclasifican en benignas o malignas (1).

BRCA1 y BRCA2

En 1990, fue identificado el primer gen asociado a CM, *BRCA1*, que está localizado en 17q21 (123)(124). Este se compone de 24 exones, 22 de los cuales codifican la proteína que tiene 1863 aminoácidos y se trata de una fosfoproteína nuclear con funciones relacionadas a la transcripción por su unión a la ARN polimerasa II y helicasa A (125)(126); además se sabe que, junto con *MSH2*, *MSH6*, *MLH1*, *ATM* y *BLM*, es parte del complejo de reparación del ADN (115). Este gen es responsable de alrededor del 15-45% de las familias con CM y 60-90% de las familias con cáncer de mama y ovario (115)(127).

En 1994 se identificó *BRCA2* que se localiza el 13q12-13 (128). Se trata de un gen con 26 exones que codifica a una proteína de 3418 aminoácidos (129)(130). Se une a *BRCA1*, *PALB2*, y *RAD51* por lo que está involucrado en funciones de reparación genética (131). La mama, el timo, pulmón, ovario y bazo son los órganos que más expresan este gen (113). La prevalencia de mutaciones se cree que está entre 1 y 2 personas por cada 1000

(115), y es responsable de alrededor del 35% de los carcinomas de mama familiares, además de asociarse a CM en hombres, de ovario, próstata y páncreas (128)(132).

Ambos genes tienen un patrón de herencia AD por lo que a los individuos portadores de variantes patogénicas les confiere un muy alto riesgo de CM, alrededor del 57-72% para *BRCA1* y 45-69% para *BRCA2*, hasta los 80 años (40)(116). Además del riesgo para CM, las pacientes también tienen alto riesgo de cáncer de ovario; 45% para *BRCA1* y 17% para *BRCA2*. Cuando se diagnostican cánceres de ovario en estos pacientes, suelen ser carcinomas serosos de alto grado. Por otro lado, se han asociado a otros carcinomas como mesotelioma peritoneal para ambos genes y melanoma en los pacientes con variantes patogénicas de *BRCA2* (40).

Las patologías asociadas a estas variantes patogénicas ocurren a edades más tempranas que los carcinomas esporádicos (133) y suelen ser con mayor frecuencia bilaterales o múltiples (40). La bilateralidad del CM puede llegar a ser tan alta como del 60% (134).

Las mutaciones en la línea germinal de *BRCA1* se asocian más CM TN (57-75%), (121)(135)(136)(137)(34), a comparación de los esporádicos (15-20%) (34)(138). Por otro lado, entre los carcinomas TN, se ha encontrado que tienen incidencia de mutación en *BRCA1* entre un 7.5 y 15.5% de los casos (34)(136)(139). Esta asociación se cree que es porque normalmente el *BRCA1*, expresado en las células estromales, reduce la expresión génica mediada por estrógenos y la expresión de $RE\alpha$, por lo que se suprime la tumorigénesis dependiente de estrógeno, pero cuando no hay adecuada expresión de *BRCA1* los niveles de estrógenos se elevan y contribuyen a la tumorigénesis; esto puede sonar confuso, pero se ha sugerido que los estrógenos promueven la iniciación y progresión

de los tumores deficientes de *BRCA1* con negatividad para RE por estimulación de la proliferación celular y activación de la transición epitelial-mesenquimal (140).

Por otro lado, los pacientes con variantes patogénicas en *BRCA2* suelen presentar carcinomas similares a los esporádicos, con predominancia de luminales (121) (43).

Los carcinomas asociados a estos genes suelen ser más frecuentemente de TNE (40). Por otro lado, el tipo lobulillar suele estar más frecuente en los asociados a *BRCA2* (135), siendo raros en pacientes con mutación en la línea germinal de *BRCA1*. Otros han encontrado también mayor incidencia de carcinomas tubulares y cribiformes asociados a las variantes patogénicas de este gen (141). Las variantes patogénicas de *BRCA1*, se han asociado también a invasión angiolinfática y perfil molecular basal (1).

Un hallazgo consistente en los tumores asociados a *BRCA1* es el grado histológico alto, que ha sido reportado como grado 3 en un 66 a 84% de los casos, mientras que solo el 30-40% de los carcinomas esporádicos son de alto grado (142)(143)(144)(145). Los carcinomas asociados a *BRCA2* también tienden a tener mayor grado que los esporádicos pero la asociación es menos fuerte (40).

La expresión de RHs suele ser negativa en 71-90% de los casos asociados a mutación en *BRCA1* (146)(147), mientras que los asociados a *BRCA2* no muestran diferencia en la expresión de RHs a comparación con los esporádicos, con positividad de ellos en 40-72% de los casos (148)(149). En cuanto a los carcinomas HER2, se ha visto presente en tumores asociados a *BRCA1* o *BRCA2* en el 0-8% (148)(150)(146)(147). Se ha sugerido que esta baja incidencia es debido a la codeleción del alelo de HER2 por la pérdida de heterocigocidad en el locus de *BRCA1* (151).

El riesgo anual de un segundo CM es del 0.5% en la población en general pero aumenta al 3% en pacientes con estas mutaciones (152) y es por esto que una gran proporción de mujeres con mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* son tratadas con mastectomía bilateral profiláctica. Estas cirugías, reducen el riesgo de CM en un 90%.

Por el riesgo aumentado que tienen de ser diagnosticadas con cáncer de ovario, a veces se realizan también salpingo-ooforectomías profilácticas que reducen el riesgo de aparición en un 80%. Este procedimiento se recomienda en aquellas pacientes que tienen paridad satisfecha y se realiza en pacientes entre los 35 y 40 años si son portadoras de variantes en *BRCA1* y entre los 40 y 45 años si son portadoras de *BRCA2* (153). Hay que tomar en cuenta que este procedimiento aumenta el riesgo de enfermedad cardiovascular y osteoporosis por lo que se requiere un manejo integral (121).

Asimismo, como los genes *BRCA1* y *BRCA2* tienen un rol en la reparación del ADN, las pacientes con variantes patogénicas en estos genes tienen tumores que son muy sensibles a agentes que dañan esta estructura (154); también es importante determinar estas variantes genéticas ya que hay evidencia que sugiere que las portadoras de mutación en *BRCA1* y *BRCA2* se benefician de quimioterapia basada en platinos como primera línea de tratamiento, en lugar de taxanos (1). Además, existen ya estudios clínicos que investigan el tratamiento con inhibidores de PARP en etapas avanzadas de pacientes con mutación en *BRCA1* o *BRCA2* y parecen tener una supervivencia libre de progresión mayor (40). Por otro lado, Grandal identificó que los carcinomas asociados a mutación de *BRCA1* y *BRCA2* tuvieron mayor respuesta patológica al tratamiento a diferencia de los no asociados a esta mutación ($p=0.001$) (9).

Existen múltiples variantes patogénicas de los genes *BRCA1* y *BRCA2*. Inicialmente solamente 8 fueron asociadas al cáncer de mama (124)(155), pero esta lista ha ido creciendo. En la población de judíos Askenazi son frecuentes las mutaciones 185delAG y 5382insC (156), pero *BRCA1* ex9-12del fue la primera mutación identificada como mexicana y se estima que surgió alrededor de hace 1485 años (41).

Hay poblaciones que tienen una prominencia importante de ciertas variantes patogénicas; por ejemplo, el 90% de las mutaciones en los genes de judíos Askenazi corresponden a las mutaciones en *BRCA1* 185delAG y 538insC, y *BRCA2* 6714delT (157).

La frecuencia de estas variantes patogénicas varía dependiendo de la población estudiada, por ejemplo, en China donde las mutaciones en estos genes están presentes entre el 8 y 31.8% de pacientes con CM familiar y en 2.8-21.4% de las pacientes con CM de inicio temprano, que se cree que es similar a la prevalencia de los hispanos y africanos, pero menor que en los judíos Askenazi y caucásicos (40).

Se ha estudiado el impacto que tiene la pérdida de la función de *BRCA1* y *BRCA2* en los distintos componentes del microambiente tumoral, y el componente inmune ha sido uno de ellos. En modelos murinos se ha demostrado que hay diferencias en el compartimento linfóide, así como en la proporción de los componentes del sistema inmune (158). Estos hallazgos podrían tener efectos en la cantidad de TILs observados en pacientes portadoras con estas mutaciones, así como en su valor predictivo.

La mayoría de los estudios que comparan el pronóstico de pacientes con mutación en *BRCA1* y *BRCA2*, y sin mutación, muestran que no existen diferencias ni en la supervivencia libre de enfermedad ni sobrevida global (9)(159)(160), pero en un estudio

que se hizo en pacientes no seleccionadas con CM TN, se encontró que los mutados tenían mayor supervivencia libre de enfermedad, aunque la misma supervivencia global (34).

Mutaciones patogénicas de BRCA1 y BRCA2 en México

En México, actualmente no se realizan estudios genéticos, de manera generalizada, en pacientes que cumplen criterios para ellos. Lo anterior por el alto costo, la falta de cobertura en el sistema de salud público, poca conciencia de los beneficios del hallazgo de las variantes patogénicas y la escasa cantidad de médicos con experiencia en esto (161). Estudios previos han determinado que el 15% de las pacientes mexicanas con CM con historia familiar de ello, tienen variantes patogénicas en *BRCA1* o *BRCA2*, siendo incluso del 20-27% cuando se trata solamente pacientes con CM TN, los cuales representan alrededor del 20% de los CM en México (35)(37). El 78.8% de la variantes patogénicas en genes de susceptibilidad corresponden a *BRCA1* y 15% a *BRCA2* (37). Las variantes más recurrentes fueron *BRCA1* ex9-12del (23%), *BRCA1* c.2433delC (8%), *BRCA1* ex16-17del (5.3%), *BRCA1* c.211A>G (4%), *BRCA1* c.5030_5033delCTAA (2.7%) y *BRCA2* c.274C>T (2.7%) (37). En este estudio también se identificó que los pacientes portadores de variantes patogénicas se diagnosticaron a edad más temprana (37 años) que en pacientes sin estas variantes (40 años), y esto siguió siendo estadísticamente significativo cuando se estratificó por *BRCA1* (36 vs 40), aunque no para variantes de *BRCA2* (41 vs 40) (37). No se identificaron diferencias en cuanto a la etapa clínica de diagnóstico y la presencia o no de mutaciones (37). La incidencia de estas variantes patogénicas es mayor que en otros estudios de países europeos y de Estados Unidos en pacientes con CM TN (11.2%) sin

embargo, estos estudios se han hecho en pacientes no seleccionadas por alto riesgo de carcinoma hereditario (162). De la misma forma, estudios de China, han encontrado incidencias de entre el 7 y 9.6% (64) (163). Por otro lado, en estudios de Estados realizados en pacientes con CM TN y alto riesgo de carcinoma hereditario la incidencia de variantes patogénicas es del 31% (164).

Por otro lado, en pacientes con diagnóstico de CM temprano (menor a 45 años) se identificaron mutaciones patogénicas en el 9% en un estudio realizado en un hospital público del norte del país (38). En otro estudio (115) se estudiaron pacientes con síndrome de cáncer mama-ovario hereditario y de inicio diagnóstico temprano (menor a 40 años) y se identificaron mutaciones patogénicas en el 5%.

Capítulo 3 – Metodología

Diseño del estudio

Descripción del estudio

Se trata de un estudio observacional, analítico, transversal y retrospectivo que evaluó la relevancia de la presencia de mutaciones en la línea germinal de los genes *BRCA1* y *BRCA2* sobre el porcentaje de TILs, la respuesta a la TNA y pronóstico (supervivencia libre de enfermedad y global) en pacientes con CM con alto riesgo de carcinoma hereditario.

Fundamentos para el diseño del estudio

Este es un estudio exploratorio que pretendió definir si existen diferencias en cuanto al valor pronóstico y predictivo del estado en la línea germinal de los genes *BRCA1* y *BRCA2* en pacientes sobre el porcentaje TILs, la respuesta a la TNA y pronóstico (supervivencia libre de enfermedad y global) en pacientes con CM con alto riesgo de carcinoma hereditario. La información que obtuvimos de este estudio es suficiente para el propósito de éste.

Fundamentos para la población de pacientes

La población incluida se compone de pacientes con diagnóstico de CM con alto riesgo de carcinoma hereditario y que cumplieron los criterios de NCCN (edad temprana,

bilateralidad, tipo molecular y antecedentes heredofamiliares), y a quienes se les realizó la prueba genética para búsqueda de mutación (protocolo HISPANEL).

Fundamentos para la elección del tratamiento

No se tuvo control de la terapia que llevaron las pacientes, los tratamientos de las pacientes fueron consensados en el Tumor Board de Cáncer de Mama.

Fundamentos para los factores de estratificación

Aunque la determinación del punto de corte de los TILs entre bajos y altos es difícil por la variabilidad en la literatura (98)(97), en la mayoría de los estudios ya publicados, se evalúan el factor pronóstico y predictivo de los strTILs en intervalos de 10%, y se categorizan como “altos” si el porcentaje es mayor o igual a 50%. Estos serán los cortes que se usarán en el estudio para determinar su significancia.

Es bien conocido que una pCR es predictivo de mejor supervivencia libre de enfermedad y global (165). Este hallazgo ha sido estadísticamente significativo al compararlo con pacientes que tienen respuesta patológica parcial y respuesta patológica nula, por lo que incluso en algunos casos de ensayos clínicos es considerado un punto de corte de supervivencia temprano (166). Por lo anterior, se dividió a las pacientes que tuvieron TNA en pCR y no-pCR (respuesta patológica parcial o nula) para evaluar su relevancia.

Fundamentos para la obtención de muestras biológicas (tejidos)

Se usaron muestras de tejido con tinciones de hematoxilina y eosina para la valoración de TILs.

Se utilizó la información genética de pacientes que participaron y firmaron un consentimiento informado del estudio: “Validación del HISPANEL y estudios de susceptibilidad genética en pacientes mexicanas con alto riesgo de síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario” (167).

Las muestras utilizadas consistieron en las biopsias realizadas para diagnóstico y tratamiento clínico de pacientes con sospecha y diagnóstico de cáncer de mama, respectivamente. Además, en pacientes que cumplieron diagnósticos de NCCN para valoración genética de mutaciones en la línea germinal, se recabó muestra de sangre periférica para la realización de éste.

Materiales y métodos

Pacientes

Se incluyeron pacientes que participaron en el estudio “Validación del HISPANEL y estudios de susceptibilidad genética en pacientes mexicanas con alto riesgo de síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario”, que tienen diagnóstico de CM invasor y

clasificación por IHQ del tipo molecular simplificado. Además, las pacientes debieron tener al menos 24 meses de seguimiento.

Muestra

Según el cálculo de muestra ideal para el estudio, se llegó a un número de 307, basado en la siguiente fórmula (168):

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 p * q}{e^2}$$

- Donde se utilizaron los siguientes parámetros:
 - Nivel de confianza para una seguridad del 95% (Z)
 - Probabilidad de que ocurra el evento % - éxito (p): Personas en México con cáncer de mama, alto riesgo de carcinoma hereditario y mutación en la línea germinal de BRCA 23%
 - Precisión absoluta del 5% (e)
 - Probabilidad de que no ocurra el evento % - fallo (q) Personas en México con cáncer de mama, alto riesgo de carcinoma hereditario y mutación en la línea germinal desconocida 87%

Sin embargo, debido al tamaño de nuestro centro, solamente contamos con la información completa de 168 pacientes que dará una precisión aproximada del 94% (168).

Criterios de Inclusión

- Pacientes con variante patogénica en la línea germinal de *BRCA1* o *BRCA2*, y pacientes con resultado negativo de otros genes estudiados mediante HISPANEL
- Pacientes con diagnóstico histológico de CM invasor
- Presencia de tejido adecuado obtenido por biopsia, o mastectomía postenoadyuvancia o no para valoración de TILs en el Laboratorio de Patología del Hospital San José
- Resultado previo del inmunofenotipo (luminal, HER2 o TN)
- Contar con datos clínicos y seguimiento de por lo menos 24 meses

Criterios de Exclusión

- Mujeres con diagnóstico de CM in situ, sin invasor
- Material inadecuado para valoración de TILs
 - Presencia solamente de material de mastectomía con TNA y pCR
- Prueba genética de mutaciones en la línea germinal con variantes genéticas de *BRCA1* o *BRCA2* de significado desconocido, o presencia de mutación en *BRCA1* (de significado conocido) o *BRCA2* (de significado conocido) con mutación en otro gen de susceptibilidad para CM, o mutación de *BRCA1* y *BRCA2* en la misma paciente
- Que no se cuente con el inmunofenotipo (luminal, TN y HER2)
- Que no se cuente con datos clínicos o que el seguimiento sea menor de 24 meses

Criterios de Suspensión

No aplica

Evaluación del estudio

Formas de consentimiento informado y registro de selección

De las pacientes incluidas en el estudio, se recabó el consentimiento informado firmado por ella o su representante legal al del inicio del estudio “Validación del HISPANEL y estudios de susceptibilidad genética en Pacientes Mexicanas con Alto Riesgo de Síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditario” el cual incluye una cláusula donde se les menciona que sus muestras podrán ser utilizadas en el futuro para investigaciones relacionadas con cáncer de mama (Ver anexo 1).

Historia clínica y datos demográficos

La información demográfica se obtuvo de la plataforma PATHOX y Centro de Cáncer de Mama de TecSalud. Los datos clínicos se obtendrán de expedientes del Centro de Cáncer de Mama de TecSalud, así como del Sistema Carestream de estudios de radiología.

Exploración física

Se realizaron exploraciones clínicas ginecológicas y de la zona de la glándula mamaria dependiendo del contexto clínico del paciente evaluado.

Estudios de laboratorio y gabinete

Las muestras de tejido fueron manejadas con técnica de preservación convencional, ya sea con formaldehído amortiguado al 10% para mastectomías o Glyo-Fixx para biopsias diagnósticas. Fueron fijadas de 8 a 72 horas y, posteriormente, se procesaron de manera convencional para ser incluidos en bloques de parafina y ser teñidas con hematoxilina y eosina. En los bloques más representativos de las muestras recibidas se realizó técnica de IHQ para RE, RP y HER2, evaluando la presencia tanto de controles externos como internos. En caso de resultado indeterminado para HER2 (2+) se solicitó un estudio de FISH para determinar la sobreexpresión de este gen.

Se categorizaron como luminales a aquellos que tuvieran positividad para RE y/o RP en al menos el 1% de las células; se definieron como HER2 a aquellos que presentaban negatividad para RHs y positividad (3+) para HER2 o con resultado indeterminado (2+) pero con prueba de ISH positiva para sobreexpresión; se categorizaron como TN aquellos CM que fueron negativos tanto para RHs como HER2.

Se evaluaron los TILs al momento del diagnóstico histopatológico o retrospectivamente, si no estaba reportado, siguiendo las guía de la Breast Cancer Research

Foundation y el International Immuno-Oncology Working Group (112). Esta evaluación fue realizada por una patóloga especializada en glándula mamaria (GSGM).

Se utilizó el material disponible para esta evaluación dando como prioridad mastectomías parciales, totales o radicales sobre biopsias, y éstas con prioridad sobre mastectomías postneoadyuvancia.

Para el análisis genético, se extrajeron 10 mL de sangre periférica y se realizó estudio de HISPANEL y PCR para detección del rearrreglo *BRCA1* ex9-12del (169). Posteriormente todas las pruebas positivas fueron confirmadas mediante pruebas comerciales. En los casos con resultado negativo y alto riesgo de carcinoma hereditario (>20%) se realizó secuenciación completa (169).

Metodología

Pacientes

El estudio se realizó retrospectivamente con las pacientes incluidas en el estudio HISPANEL (Anexo 1) del Centro de Cáncer de Mama de TecSalud y quienes eran pacientes con alto riesgo de carcinoma de mama hereditario por criterios de la NCCN. Se obtuvieron 10 mL de sangre periférica, previo consentimiento informado.

Las pacientes incluidas fueron diagnosticadas con CM por primera vez desde enero de 2003 hasta septiembre de 2019.

La información clínica y características del tumor fueron recabadas tanto de los expedientes clínicos del Centro, de la plataforma PATHOX del laboratorio de patología, así como del programa Carestream de radiología hasta septiembre de 2021 (Tabla 5).

Tabla 5. Variables

Variable	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Valor de variable
Edad al diagnóstico	Edad del paciente en el momento que se realiza el diagnóstico histopatológico	Cuantitativa continua	Años	15-100
Tipo histológico	Grupo de neoplasias que comparten características generales como célula de origen, histológicas, tanto arquitecturales y citológicas, así como forma de tratamiento y pronóstico	Cualitativa nominal	Nominal	TNE o Lobulillar o Mixto u Otro
Formación tubular	Porcentaje de formación glandular de la neoplasia	Cuantitativa discreta	1: >75% forma dl tumor tubos 2: 10-75% forma tubos 3 < 10% forma tubos	1-3
Núcleos	Características nucleares de la neoplasia. Puede variar en tamaño y forma.	Cuantitativa discreta	1: Núcleos monótonos 2: Núcleos con variabilidad en tamaño y forma 3: Núcleos con marcada variabilidad en tamaño y forma	1-3

Mitosis	Número de mitosis en 10 campos consecutivos a alto poder.	Cuantitativa discreta	Variable dependiendo del microscopio utilizado (59)	1-3
Grado de diferenciación	Se toma en cuenta la formación tubular, núcleos y mitosis (sumatoria)	Cuantitativa discreta	5 o menos: Bien diferenciado (1) 6 o 7: Moderadamente diferenciado (2) 8 o 9: Poco diferenciado (3)	1-3
IMC	Valor que utiliza el peso y estatura para determinar el grado de sobrepeso/obesidad	Cuantitativa continua	kg/m ²	10-60
Estatus en la línea germinal de <i>BRCA1</i> o <i>BRCA2</i>	Presencia o no de una mutación patogénica en la línea germinal	Cualitativa nominal	Nominal	Sí o No
Lateralidad	Lateralidad de la glándula mamaria afectada	Cualitativa nominal	Nominal	Derecha o Izquierda
Bilateralidad	Afección por carcinoma invasor a ambas mamas. Puede ser sincrónico o metacrónico	Cualitativa nominal	Nominal	Sí o No
Multiplicidad	Presencia de más de un carcinoma invasor en la mama afectada	Cualitativa nominal	Nominal	Sí o No
Etapa clínica	Etapa oncológica del paciente que tiene indicaciones de tratamiento y repercusiones pronósticas	Cuantitativa discreta	I: Enfermedad temprana II: Enfermedad localizada III: Enfermedad localmente diseminada IV: Enfermedad metastásica	I-IV

RE	Porcentaje de positividad por medio de IHQ del receptor de estrógenos. Siendo positivo cuando está presente en al menos el 1% de los núcleos de las células tumorales, con cualquier intensidad	Cuantitativa continua	Porcentaje	0-100
RP	Porcentaje de positividad por medio de IHQ del receptor de estrógenos. Siendo positivo cuando está presente en al menos el 1% de los núcleos de las células tumorales, en cualquier intensidad	Cuantitativa continua	Porcentaje	0-100
HER2	Positividad de membrana (o no) de las células tumorales	Cuantitativa discreta	0+: Sin tinción 1+: Tinción de membrana débil o incompleta en cualquier cantidad de células tumorales 2+: Tinción de membrana completa no uniforme o débil en al menos 10% de las células, o tinción de membrana intensa y completa en 30% o menos de	0+-3+

			las células tumorales 3+: Tinción de membrana intensa y uniforme en más del 30% de las células	
Ki-67	Marcador nuclear de IHQ que es positivo en células que se encuentran proliferando	Cuantitativa continua	Porcentaje	0-100
Neoadyuvancia	Tratamiento previo a la resección oncológica	Cualitativa nominal	Nominal	Sí o No
Taxanos	Uso de taxanos como tratamiento	Cualitativa nominal	Nominal	Sí o No
Antraciclinas	Uso de antraciclinas como tratamiento	Cualitativa nominal	Nominal	Sí o No
Ciclofosfamida	Uso de ciclofosfamida como tratamiento	Cualitativa nominal	Nominal	Sí o No
Platinos	Uso de platinos como tratamiento	Cualitativa nominal	Nominal	Sí o No
Anti-HER2	Uso de anti-HER2 como tratamiento	Cualitativa nominal	Nominal	Sí o No
Terapia hormonal	Uso de terapia hormonal como tratamiento	Cualitativa nominal	Nominal	Sí o No
Anti-PD1	Uso de anti-PD1 como tratamiento	Cualitativa nominal	Nominal	Sí o No
Anti-VEGF	Uso de anti-VEGF como tratamiento	Cualitativa nominal	Nominal	Sí o No
Respuesta patológica a TNA	Tipo de respuesta tumoral a la TNA n que evalúa la cama tumoral, la celularidad, el porcentaje del cáncer que es in-situ, el número de ganglios linfáticos	Cualitativa nominal	Nominal	Sin respuesta o Respuesta parcial o Respuesta completa

	positivos y el diámetro metastásico mayor			
Fecha de diagnóstico	Fecha de reporte histopatológico positivo para carcinoma invasor	Cuantitativa continua	DD/MM/AAAA	Hasta septiembre 2019
Fecha de recurrencia	Fecha de confirmación de la presencia de un tumor de la misma histología de manera local o distalmente	Cuantitativa continua	DD/MM/AAAA	Hasta septiembre 2021
Fecha de muerte	Fecha de diagnóstico de muerte según acta de defunción	Cuantitativa continua	DD/MM/AAAA	Hasta septiembre 2021
Fecha de última consulta	Fecha de última visita al Centro de Cáncer de Mama	Cuantitativa continua	DD/MM/AAAA	Hasta septiembre 2021
Tipo de cirugía	Técnica quirúrgica terapéutica como tratamiento primario	Cualitativa nominal	Nominal	Mastectomía radical modificada o Mastectomía simple o Mastectomía parcial
Tipo molecular	Clasificación molecular simplificada de los CM por medio de IHQ	Cualitativa nominal	Nominal	Luminal o HER2 o TN
TILs %	Cuantificación de los TILs estromales según las guía de la Breast Cancer Research Foundation y el International Immuno-Oncology Working Group (112)	Cuantitativa continua	Porcentaje	1-100
TILs dicotómico	División dicotómica del porcentaje de TILs	Cuantitativa discreta	Bajo: <50% Alto: ≥50%	Alto o Bajo

Los tratamientos previamente recibidos por las pacientes fueron consensados por el equipo interdisciplinario del Centro de Cáncer de Mama en su momento.

Muestras de los tumores

Los tumores utilizados para los análisis fueron los primeros diagnosticados en cada paciente. Se definió como material adecuado en caso de presencia de CM invasor en la biopsia diagnóstica por aguja de corte grueso, en mastectomía sin TNA o tumor residual en mastectomía postneoadyuvancia.

Inmunohistoquímica

De las muestras de tumor seleccionadas, se realizaron cortes con microtomo de 2-3 micras y estas fueron colocadas en laminillas electrocargadas para posteriormente ser desparafinadas por 5 minutos en 2 cambios de xilol, 10 pasadas de propanolol, etanol al 100%, etanol al 95%, etanol al 90%, etanol al 80% y agua. La recuperación antigénica fue inducida por calor con buffer citratado en el Tinto Stainer PT Module de BioSB, donde se mantienen las laminillas hasta 98 °C por 20 minutos y posteriormente desciende a 60 °C, cuando es momento de pasarlas al BioSB Thermo TintoStainer-Sistema automatizado, donde se realizó estudio de RE (clona EP1-BioSB), RP (clona RBT-BioSB) y HER2 (clona EP5-BioSB), usando el protocolo interno validado. Se montaron las laminillas con cubreobjetos para su estudio en el microscopio. Todas las laminillas incluyeron controles externos positivos.

De acuerdo a la guía CAP/ASCO (60), los casos fueron considerados como RHs positivos cuando al menos el 1% de las células neoplásicas expresaron estos marcadores (RE y/o RP) de manera nuclear y con cualquier intensidad.

Por otro lado, el estado de HER2 fue definido como negativo cuando resultaron 0 o 1+ por IHQ. Los casos que resultaron 2+ fueron analizados posteriormente por FISH para confirmar la positividad. Los casos que resultaron 3+ por IHQ fueron considerados positivos.

Con estos 3 marcadores, los tumores fueron clasificados como luminales (RE y/o RP positivos, independientemente del resultado de HER2), HER2 (solamente HER2 positivos) y TN (RE, RP y HER2 negativos).

TILs y grado de respuesta patológica

Los TILs fueron evaluados de manera retrospectiva por una patóloga experta en mama en aquellos casos que no contaban con este parámetro en el reporte original. Estos fueron valorados en tejido fijado en formol e incluido en parafina de muestras preferentemente provenientes de mastectomías sin TNA, si no en la biopsia diagnóstica y si no en la mastectomía con TNA. Se evaluó de acuerdo a la guía del Grupo de Trabajo de TILs (170). Los TILs fueron definidos como la presencia de infiltrado mononuclear (linfocitos y células plasmáticas) que estaba en el estroma tumoral y peri-tumoral, excluyendo áreas de CDIS, zonas de necrosis y artefactos. En los casos de tejido post-neoadyuvancia, se evaluó tanto en el estroma como dentro del borde de la cicatriz tumoral. Se puntuó continuamente como el porcentaje promedio del estroma ocupado por células mononucleares. Se realizó división

dicotómica de este parámetro, refiriéndonos a altos cuando el porcentaje era 50% o mayor y bajos cuando eran menores estos valores.

Fue definida como pCR como la ausencia total de carcinoma invasor tanto en la mama como en los ganglios linfáticos regionales (ypT0/is, N0). La presencia de respuesta patológica parcial o ausencia total de esta se definió como no-pCR.

Estado de BRCA en la línea germinal

Se utilizó el resultado del protocolo de HISPANEL para categorizar a las pacientes. Las muestras incluidas en este estudio fueron analizadas mediante la plataforma de secuenciación Sequenom® y búsqueda de rearrreglos grandes mediante amplificación por ligación múltiple de sondas (MLPA). Asimismo, se realizó secuenciación de siguiente generación (NGS) para la detección de otros genes asociados al síndrome hereditario mama/ovario de acuerdo con los criterios sugeridos por NCCN y ESMO.^{4,5} Los genes analizados fueron *ACY1, ANXA5, APEX1, AR, ATM, ATR, AXL, BARD1, BLM, BRCA1, BRCA2, BRCC3, BRIP1, BUB1B, C1orf168, C1orf168, C1orf168, CDAN1, CDH1, CDK9, CDKN2A, CEACAM18, CEP192, CHEK2, CTH, CTNNA1, CYP2B6, DCLRE1C, DIRC2, DIS3, DNAH14, EGFR, ERCC2, ERCC3, FAM151A, FANCA, FANCC, FANCG, FANCL, FANCM, GEMIN2, GPR146, GRK4, HMGCL, JAK2, LIG1, LTV1, MAP3K1, MAPK15, MC1R, MDC1, MED23, MFSD4B, MITF, MLH1, MLH3, MSH2, MSH4, MSH6, NBN, NEIL1, NF1, NRIP1, NTHL1, PALB2, PARP2, PFKFB1, POLD1, POLE, POLQ, POT1, PPM1D, PRDM9, PRKDC, PTEN, PTPN11, RAD18, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RASSF4, RBBP8, RECQL, RNF175, RPAP1, SCN10A, SLFN11, SLX4, SMARCAL1,*

SUPT3H, SYT15, TBC1D5, THBS3, THRAP3, TIMMDC1, TMTC1, TNFRSF6B, TNFSF10, TP53, UGGT2, USP7, VARS2, WDR5B, XRCC2, XRCC3, ZCWPW1, ZNF436 y *ZNF551*. Cuando se identificó una variante patogénica de *BRCA1* o *BRCA2* en el análisis genético se clasificó como mutado. Las pacientes que se les encontró una variante de estos genes de significado indeterminado, mutación en ambos genes o mutación en algún otro gen fueron excluidas de este estudio. Las pacientes a las que no se les encontró mutación en ningún gen fueron clasificadas como no mutadas.

Puntos de corte de supervivencia

La supervivencia libre de enfermedad fue definida como el tiempo desde la cirugía a la recurrencia loco-regional o a distancia, lo primero que ocurriera primero. La supervivencia global fue definida como el tiempo entre la cirugía y el fallecimiento. Para pacientes que no tuvieron ninguno de estos eventos, la información fue censurada hasta la fecha del último contacto conocido. El punto de corte del análisis fue el 31 de septiembre de 2021.

Técnicas de análisis estadístico

Para las variables cuantitativas se calcularon medidas descriptivas como media y desviación estándar. En el caso de las variables categóricas se usaron proporciones. Para analizar las diferencias entre grupos, se utilizaron pruebas de Fisher y chi cuadrada, y t de

student para variables categóricas y cuantitativas, respectivamente; la significancia estadística se contempló cuando $p \leq 0.05$. También se realizó análisis de regresión lineal múltiple con la técnica de Poisson y pruebas de correlación de Pearson. Para el análisis de supervivencia, se realizaron curvas de Kaplan-Meier con el método de Mantel-Cox (logrank).

Programas por utilizar para análisis de datos

Los datos se analizaron utilizando el programa Microsoft Excel Versión 16.61.1 para las medidas descriptivas y *GraphPad 8.0.1 para Windows, GraphPad Software, San Diego, California, USA, www.graphpad.com*, para el análisis inferencial.

Consideraciones éticas

Cumplimiento con las Leyes y Regulaciones

Este estudio se realizó en total conformidad con la guía de la ICH E6 de las Buenas Prácticas Clínicas y con los principios de la Declaración de Helsinki, así como con las leyes y regulaciones de México.

Consentimiento Informado

De las pacientes incluidas en el estudio, se recabó consentimiento informado previo al estudio de HISPANEL. Fue firmado por las pacientes o su representante legal al momento del internamiento y/o intervención. (Anexo 1).

Comité de Ética

Esta investigación fue aprobada por el Comité de Ética llamado Comité de Investigación del Instituto Tecnológico y Estudios Superiores de Monterrey con número de registro ante la COFEPRIS “COFEPRIS 20 CI 19 039 002”, el día 30 de noviembre de 2021 (Anexo 2).

Confidencialidad

Se codificaron las pacientes en la base de datos y, asimismo, se mantendrán en anonimato al momento de publicar los resultados del estudio.

Riesgos previsibles y probables

No hay riesgo para las pacientes ya que siguieron tratamiento indicado por las guías de tratamiento al momento del manejo y tuvieron seguimiento estándar acorde a las guías establecidas en el momento de su diagnóstico (estudio retrospectivo).

Protección frente al riesgo físico y/o emocional

No aplica

Capítulo 4 – Resultados

Características de la muestra

El número total de pacientes incluidos fue de 168, siendo todas mujeres. Se identificaron mutaciones patogénicas conocidas en los genes *BRCA1* y *BRCA2* en 39 pacientes (23%); de éstas, 24 pacientes tuvieron mutado el *BRCA1* (62%) y 15 *BRCA2* (38%). Las pacientes tuvieron diagnóstico inicial de CM a una edad media de 39.6 años (rango de 22 a 65). La media del IMC fue de 29.47 kg/m² (rango de 17.5 a 47.3). De acuerdo con los subtipos moleculares, se repartieron de la siguiente manera: 89 luminales (53%), 65 TN (38.7%) y 14 HER2 (8.3%). En ochenta y ocho pacientes el carcinoma índice se localizó en la glándula mamaria derecha (52%) y en ochenta en la izquierda (48%). Dieciséis pacientes (9.5%) tuvieron carcinomas bilaterales, siete diagnosticados de manera sincrónica (44%) y nueve de manera metacrónica (56%).

En cuanto al tipo microscópico, ciento cincuenta y uno eran de TNE (89.9%) y diecisiete de otros tipos, incluyendo metaplásicos, lobulillares, mucinosos, tubulares y mixtos. Ocho eran grado 1 (4.8%), setenta y cuatro grado 2 (44%) y ochenta y seis grado 3 (51.2%). Se encontró una fuerte correlación por el método de Pearson entre el tipo molecular y el grado de diferenciación ($r=0.484$, IC95% 0.3588-0.592, $p<0.001$) (Tabla 5).

De las que se tenía información completa, solamente una (0.6%) paciente tenía antecedente de personal cáncer de ovario (1/161). Cuarenta y uno de 160 (25%) tenían un miembro de la familia de primer, segundo o tercer grado con CM diagnosticado a los 50 años o menos, trece tenían dos familiares con este criterio (8%), tres con tres (2%), tres pacientes tenían cuatro, cinco y siete familiares afectados, respectivamente; cien (62%) no tenían familiares que cumplieran este criterio. Ciento cuarenta y cinco de 160 pacientes

(92%) no tenían familiares de primer, segundo o tercer grado con diagnóstico de cáncer de ovario diagnosticado a cualquier edad, trece tenían un familiar que cumpliera con estos criterios (8%), una tenía dos familiares con este criterio y otra tenía once familiares que cumplían con este criterio. Solamente dos de 160 pacientes tenían un familiar de primer, segundo o tercer grado con cáncer de páncreas diagnosticado a cualquier edad (1%); el resto no tenía familiares con este criterio. De igual forma, solo dos de 160 pacientes tenían un familiar hombre de primer, segundo o tercer grado con CM diagnosticado a cualquier edad (1%); las demás no tenían familiares afectados con este criterio.

Las pacientes a las cuales se identificó mutación en *BRCA1* o *BRCA2* tenían una edad media a diagnóstico de 38.4 años (rango 27 a 56) a diferencia de las pacientes sin mutación en estos genes, que fue de 39.6 años (rango 22 a 65), aunque esto no fue estadísticamente significativo ($p=0.28$). Las pacientes con mutación en *BRCA1* tenían una edad media de 37.1 años y las que tenían variante patogénica de *BRCA2* 40.5 años ($p=0.12$). Por otro lado, la media de IMC en pacientes con mutación de *BRCA1* o *BRCA2* fue de 28.53 kg/m², a diferencia del grupo control que fue de 29.74 kg/m² lo cual no fue estadísticamente significativo ($p=0.28$); al analizarla como variable cualitativa tampoco hubo diferencias (Tabla 6). No hubo diferencias en cuanto a la etapa clínica entre los grupos ($p=0.16$); el grupo sin mutación se diagnosticó en etapa I en 15 casos (12%), en II en 57 casos (45%), III en 44 casos (35%) y IV en 11 casos (9%). Por otro lado, no hubo casos en el grupo con mutación diagnosticados en etapa I, 19 fueron diagnosticados en etapa II (49%), 18 en III (46%) y 2 en IV (5%) (Tablas 6 y 7).

Según el estado mutacional de los genes *BRCA1* y *BRCA2* en la línea germinal, el análisis de Poisson demostró asociación con la edad al diagnóstico ($p=0.0088$), la presencia

de familiares hasta tercer grado con diagnóstico de CM a los 50 años o menos ($p=0.0007$) y la presencia de miembros hombres de la familia de hasta tercer grado con diagnóstico de cáncer de mama ($p<0.0001$).

Tabla 6. Características de todas las pacientes incluidas

Características	Grupo	Todas n = 168 (100%)	Sin mutación n = 129 (76.8%)	Con mutación n = 39 (23.2%)	<i>p</i>
Edad	Media	39.6	40.0	38.4	0.28
IMC	Media	29.47	29.7	28.5	0.28
Grupo IMC	<18.5	1 (0.6%)	1 (0.8%)	0 (0.0%)	0.47
	18.5-25	46 (27.4%)	33 (25.6%)	13 (33.3%)	
	25.1-30	52 (30.9%)	40 (31.0%)	12 (30.8%)	
	>30.1	67 (39.9%)	54 (41.9%)	13 (33.3%)	
	NA	2 (1.2%)	1 (0.8%)	1 (2.6%)	
Historia familiar de CM	Sí	60 (35.7%)	37 (28.7%)	23 (59.0%)	0.0001
	No	100 (59.5%)	88 (68.2%)	12 (30.8%)	
	NA	8 (4.8%)	4 (3.1%)	4 (10.2%)	
Etapa clínica simplificada	I	15 (8.9%)	15 (11.6%)	0 (0.0%)	0.16
	II	76 (45.2%)	57 (44.2%)	19 (48.7%)	
	III	62 (36.9%)	44 (34.1%)	18 (46.1%)	
	IV	13 (7.7%)	11 (8.5%)	2 (5.1%)	
	NA	2 (1.2%)	2 (1.5%)	0 (0.0%)	
Tipo histológico	TNE	151 (89.9%)	114 (88.4%)	37 (94.9%)	0.37
	Otros	17 (10.1%)	15 (11.6%)	2 (5.1%)	
Grado de diferenciación	1	8 (4.8%)	8 (6.2%)	0 (0.0%)	0.0002
	2	74 (44.0%)	66 (51.2%)	8 (20.5%)	
	3	86 (51.2%)	55 (42.6%)	31 (79.5%)	
Tipo molecular	Luminal	89 (53.0%)	78 (60.5%)	11 (28.2%)	<0.0001
	TN	65 (38.7%)	37 (28.7%)	28 (71.8%)	
	HER2	14 (8.3%)	14 (10.8%)	0 (0.0%)	
TILs	Media	17.9	16.2	23.6	0.06
TILs dicotómico	Bajos	147 (87.5%)	115 (89.2%)	32 (82.1%)	0.37
	Altos	21 (12.5%)	14 (10.8%)	7 (17.9%)	
Bilateralidad	Sí	16 (9.5%)	9 (7.0%)	7 (17.9%)	0.06
	No	152 (90.5%)	120 (93.0%)	32 (82.0%)	
Tumores múltiples	Sí	20 (11.9%)	15 (11.6%)	5 (12.8%)	>0.99
	No	146 (86.9%)	112 (86.8%)	34 (87.2%)	
	NA	2 (1.2%)	2 (1.5%)	0 (0.0%)	

Tabla 7. Características de las pacientes con mutación en la línea germinal de BRCA1 o BRCA2

Características	Grupo	Con mutación n = 39 (100%)	Mutación en BRCA1 n = 24 (61.5%)	Mutación en BRCA2 n = 15 (38.5%)	p
Edad	Media	38.4	37.1	40.5	0.12
IMC	Media	28.5	29.0	27.8	0.6
	18.5-25	13 (33.3%)	8 (33.3%)	5 (33.3%)	0.77
	25.1-30	12 (30.8%)	7 (29.2%)	5 (33.3%)	
	>30.1	13 (33.3%)	8 (33.3%)	5 (33.3%)	
	NA	1 (2.6%)	1 (4.2%)	0 (0.0%)	
Historia familiar de CM	Sí	23 (59.0%)	16 (66.7%)	7 (46.7%)	0.71
	No	12 (30.8%)	7 (29.2%)	5 (33.3%)	
	NA	4 (10.2%)	1 (4.2%)	3 (20.0%)	
Etapa clínica simplificada	I	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0.16
	II	19 (48.7%)	13 (54.2%)	6 (40.0%)	
	III	18 (46.1%)	10 (41.7%)	8 (53.3%)	
	IV	2 (5.1%)	1 (4.2%)	1 (6.7%)	
Tipo histológico	TNE	37 (94.9%)	24 (100.0%)	13 (86.7%)	0.14
	Otros	2 (5.1%)	0 (0.0%)	2 (13.3%)	
Grado de diferenciación	1	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0.16
	2	8 (20.5%)	3 (12.5%)	5 (33.3%)	
	3	31 (79.5%)	21 (87.5%)	10 (66.7%)	
Tipo molecular	Luminal	11 (28.2%)	4 (16.7%)	7 (46.7%)	0.07
	TN	28 (71.8%)	20 (83.3%)	8 (53.3%)	
TILs	Media	23.6	28.6	15.6	0.09
TILs dicotómico	Bajos	32 (82.1%)	19 (83%)	13 (87%)	0.69
	Altos	7 (17.9%)	5 (17%)	2 (13%)	
Bilateralidad	Sí	7 (17.9%)	5 (20.8%)	2 (13.3%)	0.69
	No	32 (82.0%)	19 (79.2%)	13 (86.7%)	
Múltiples tumores	Sí	5 (12.8%)	3 (12.5%)	2 (13.3%)	>0.99
	No	34 (87.2%)	21 (87.5%)	13 (86.7%)	

En cuanto a los grupos moleculares, el grupo sin mutaciones fueron predominantemente luminales, con setenta y ocho casos (60.5%); treinta y siete fueron TN (28.7%) y catorce (10.8%) HER2. Por otro lado, el grupo con mutación en *BRCA1* o *BRCA2* fue predominantemente TN, con veintiocho casos (71.8%); once fueron luminales (28.2%) y no hubo HER2. Estas diferencias llegaron a ser estadísticamente significativas ($p < 0.0001$). Al dividir a las pacientes con mutación en *BRCA1* y *BRCA2*, aunque hubo una tendencia, la significancia desapareció, identificando en el grupo de *BRCA1* mutado cuatro pacientes del grupo luminal (16.7%) y 20 TN (83.3%), mientras que en el grupo de *BRCA2* mutado, siete fueron luminales (46.7%) y ocho TN (53.3%) ($p = 0.07$).

Las treinta y cinco pacientes a las cuales se les identificó mutación en la línea germinal de *BRCA1* o *BRCA2* y tenían la información clínica completa disponible, doce no tenían familiares de primer, segundo o tercer grado con diagnóstico con CM diagnosticado a los 50 años o menos (34%) y veintitrés (66%) tenían algún miembro de la familia afectado; once tenían 1 familiar con este criterio (31%), seis 2 familiares (17%), tres tenían 3 familiares que lo cumplían (9%), una con 4 familiares, una con 5 y una con 7. La presencia de familiares con CM fue diferente al compararlo entre las pacientes mutadas y no mutadas ($p = 0.0001$), ya que de las ciento veinticinco pacientes con pacientes sin mutación y con información suficiente treinta y siete (30%) cumplieron este criterio y, ochenta y ocho (70%) no; treinta tenían 1 familiar con este criterio (24%) y siete tenían 2 familiares (6%). Esta diferencia no se observó al separar a las pacientes por grupo dependiendo si la variante patogénica se encontró en *BRCA1* y *BRCA2* ($p = 0.71$); de las pacientes con mutación en *BRCA1*, dieciséis (70%) tuvieron familiares con el criterio y

siete no (30%), y siete de las pacientes con mutación en *BRCA2* cumplieron con el criterio (58%), mientras que cinco no (42%).

En cuanto a la lateralidad, 19 pacientes con mutación patogénica de *BRCA1* o *BRCA2* tuvieron su tumor inicial en la glándula mamaria derecha (49%) y 20 en la izquierda (51%), mientras que 69 (53%) pacientes sin mutación tuvieron más frecuentemente su tumor inicial en la glándula mamaria derecha y 60 en la izquierda (47%). De las pacientes sin mutación, 9 (7%) tuvieron carcinoma bilateral, siendo 3 de éstos sincrónicos (33%) y 6 metacrónicos (67%), y 120 no (93%); por otro lado, 7 (17.9%) de los carcinomas de pacientes con mutación en *BRCA1* o *BRCA2* 18% fueron bilaterales, de los cuales fueron 4 sincrónicos (57%) y 2 metacrónicos (43%), y 32 (82%) fueron unilaterales. Aunque parece haber una tendencia, la diferencia de frecuencia de bilateralidad no llegó a ser estadísticamente significativa, aunque parece haber una tendencia ($p=0.06$). No hubo diferencia en cuanto a la multiplicidad ($p>0.99$) ya que se presentó de esta forma en 15 (11.6%) pacientes sin mutación en *BRCA1* o *BRCA2*, y en 5 (12.8%) en pacientes con mutación.

Las pacientes con mutación tuvieron un tipo histológico de tipo TNE en 34 casos (94.9%) y las pacientes sin mutación tuvieron esta histología en 114 casos (88.4%), lo cual no resultó en una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.37$). Se observaron diferencias en cuanto al grado histológico, ya que en el grupo de pacientes sin mutación 8 pacientes (6.2%) tuvieron carcinomas bien diferenciados, 66 (51.2%) moderadamente diferenciados y 55 (42.6%) poco diferenciados, mientras que en el grupo de pacientes con mutación no hubo pacientes con carcinomas bien diferenciados, 8 tuvieron carcinomas moderadamente diferenciados (20.5%) y 31 fueron poco diferenciados (79.5%)

($p=0.0002$); al comparar los grupos de mutación en *BRCA1* y *BRCA2* no hubo diferencias ($p=0.16$), con 3 pacientes con mutación en *BRCA1* con carcinomas moderadamente diferenciados (12.5%) y 21 (87.5%) poco diferenciados, mientras que 5 pacientes con mutación en *BRCA2* tuvieron carcinomas moderadamente diferenciados (33.3%) y 10 poco diferenciados (66.7%).

En cuanto a los grupos moleculares, el grupo sin mutaciones fueron predominantemente luminales. con 78 casos (60.5%), 37 fueron TN (28.7%) y 14 (10.8%) HER2. Por otro lado, el grupo con mutación fueron predominantemente TN, con 28 casos (71.8%), 11 luminales (28.2%) y no hubo HER2. A pesar de la aparente diferencia, esto no fue estadísticamente significativo ($p=0.5$), pero al comparar a las pacientes con mutación en *BRCA1* y *BRCA2*, esa diferencia se acentuó, ya que en el grupo de *BRCA1* mutado 4 pacientes eran de tipo luminal (16.7%) y 20 TN (83.3%), mientras que en el grupo de *BRCA2* mutado, 7 fueron luminales (46.7%) y 8 TN (53.3%); a pesar de esto, la diferencia tampoco fue estadísticamente significativa ($p=0.17$).

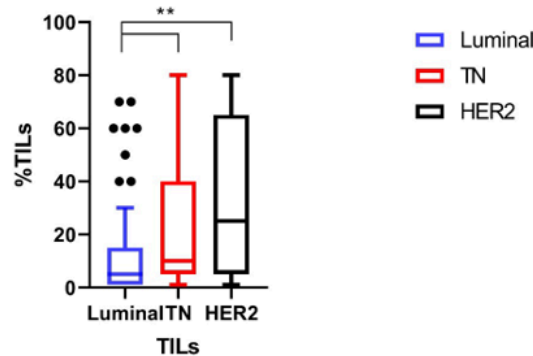
TILs

Los TILs fueron valorados en tejido no tratado en el 93% de los casos (157/168). La media de los TILs fue de 17.9%, siendo 21 (12%) categorizados como altos ($\geq 50\%$). Se observaron diferencias entre el grupo sin mutación, con una media de 16.2%, y con mutación, con media de 23.6, sin embargo, no llegó a ser estadísticamente significativo

($p=0.06$); al compararlo por gen mutado, tampoco hubo una diferencia significativa ya que las *BRC1* mutadas tuvieron una media de 28.6% y las *BRC2* mutadas 15.6% ($p=0.09$).

En el total de la población, los TILs tuvieron una media de 12.4%, 22.2% y 33.3% para el tipo luminal, TN y HER2, respectivamente, con diferencias significativas entre el grupo luminal contra TN ($p=0.0169$), luminal vs HER2 ($p=0.0201$), pero no entre los grupos TN y HER2 ($p=0.2639$) (Figura 1). Fueron categorizados como altos el 7, 17 y 71% para los subtipos luminales, TN y HER2, respectivamente, lo cual fue significativo ($p<0.0001$) (Tabla 8).

Figura 1. Barras de distribución de TILs en relación con los tipos moleculares



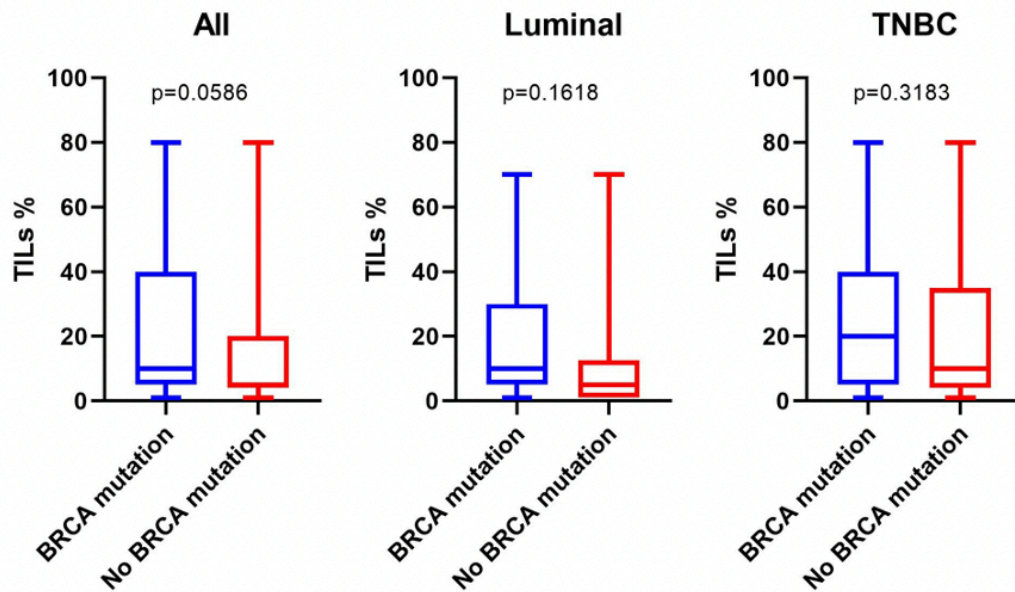
Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Significant?	Summary	Adjusted P Value
Luminal vs. TN	-9.749	-18.02 to -1.481	Yes	*	0.0169
Luminal vs. HER2	-20.88	-38.47 to -3.292	Yes	*	0.0201
TN vs. HER2	-11.13	-29.03 to 6.771	No	ns	0.2639

Tabla 8. TILs dicotómico según tipo molecular

	Todos n=168 (100%)	Luminales n=89 (53%)	TN n=65 (38%)	HER2 n=14 (8%)	<i>p</i>
TILs no altos	147 (87.5%)	83 (93%)	54 (83%)	4 (29%)	<0.0001
TILs altos	21 (12.5%)	6 (7%)	11 (17%)	10 (71%)	

Se realizó análisis por subgrupos de los tipos moleculares, según la presencia o no de mutación, y se encontró que no hubo diferencias en los TILs como variable continua en toda la muestra, según la presencia o no de mutación, y tampoco se identificaron diferencias según el tipo molecular; no se pudo realizar esta comparación en los HER2 ya que ninguno tuvo mutación (Figura 2).

Figura 2. Barra de distribución de TILs en relación con los tipos moleculares y presencia o no de mutación en BRCA1 y BRCA2



Según el análisis de regresión múltiple con el método de Poisson para las variables cuantitativas sobre los TILs, se identificó relación con el grado de diferenciación ($p<0.0001$), la edad al diagnóstico ($p<0.0001$) e IMC ($p<0.0001$), pero no con el tiempo para recurrencia ($p=0.64$) ni al fallecimiento ($p=0.79$). En cuanto a las variables cualitativas en relación con los TILs, se encontraron diferencias estadísticamente significativas con

relación a la bilateralidad ($p=0.0001$), grado de diferenciación ($p<0.0001$), tipo molecular ($p=0.02$), etapa clínica ($p<0.0001$), grado de respuesta patológica ($p<0.0001$), recurrencia ($p=0.0002$) y muerte ($p=0.0001$). Por otro lado, no se encontraron diferencias en cuanto a la presencia de mutación en los genes *BRCA1* y *BRCA2*, y TILs ($p=0.1058$).

Respuesta a la TNA

Cien pacientes (59.5%) tuvieron TNA. No hubo diferencia significativa ($p=0.19$) entre los grupos en cuanto a la selección de tratamiento adyuvante o no; 73 pacientes del grupo no mutado tuvieron este tratamiento (56.6%) y 27 del grupo mutado lo tuvieron (69.2%). Del total de pacientes con TNA, 47 tuvieron pCR y hubo diferencias significativas al dividirlos por tipo molecular, con 39, 45 y 100% de pCR para los luminales, TN y HER2 ($p=0.02$), observando diferencias entre los TN y HER2 ($p=0.0051$), los luminales y HER2 ($p=0.0075$) pero no entre los luminales y TN ($p=0.69$). Los TILs fueron significativamente mayores en aquellos con pCR (media 25%) que en los que no (12.7%) ($p=0.034$) y con el análisis de Pearson hubo asociación entre los TILs y la pCR ($p=0.0001$). Por otro lado, se encontró que los TILs altos son un factor predictivo de pCR (OR 0.1144, IC95% 0.02475-0.5222, $p=0.0028$), aunque al dividirlo por tipos moleculares, no llegó a ser estadísticamente significativo (luminales: OR 7.437, IC95% 1.014-93.9 $p=0.0724$, TN: OR 7.667, IC95% 0.9544-93.54, $p=0.0773$) (Tabla 8).

Además, se observaron diferencias en cuanto al IMC en el grupo con pCR contra el que no la tuvo, el primero con una media de 27.43 y el segundo de 30.27, que fue

estadísticamente significativo ($p=0.018$). El grado de diferenciación también fue estadísticamente significativo, con 0, 40 y 60% de pCR para los bien, moderado y poco diferenciado, respectivamente, y 4, 17 y 79% de CM bien, moderado y poco diferenciado, respectivamente, en los que no la tuvieron ($p=0.0149$), además de que en el análisis univariado un mayor grado se cataloga como factor de riesgo para no obtener pCR (OR: 3.167, IC95% [1.238-7.493]).

En cuanto a la respuesta a la TNA, el análisis de Poisson demostró asociación con los TILs ($p=0.449$), pero no con el grado de diferenciación ($p=0.8167$), subtipo molecular ($p=0.98$), etapa clínica ($p=0.55$), edad al diagnóstico ($p=0.96$), IMC ($p=0.93$), ni estado en la línea germina de *BRCA1* y *BRCA2* ($p=0.1026$).

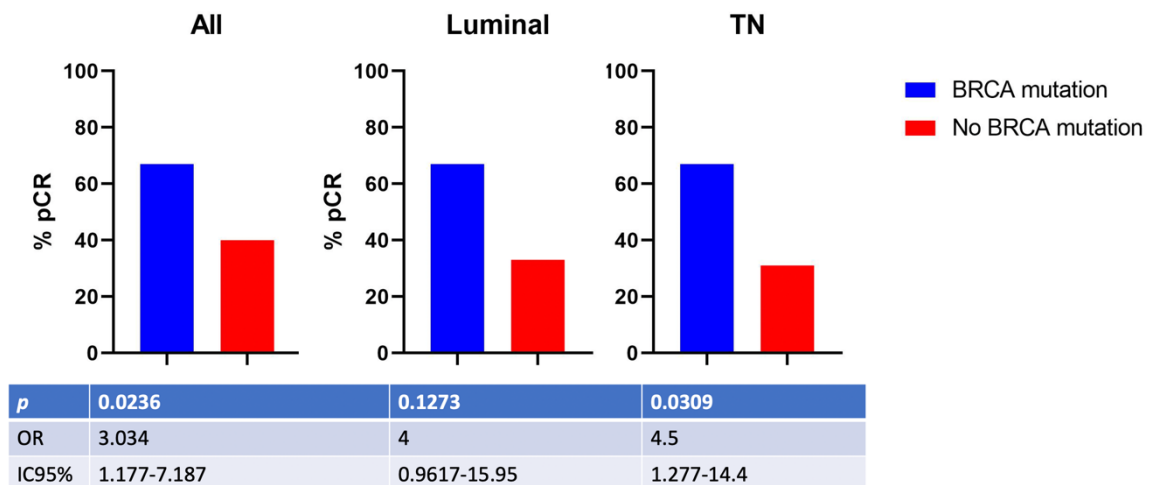
Tabla 9. Características de pacientes con TNA

Característica		pCR n=47 (47%)	No pCR n=53 (53%)	<i>p</i>
Edad al diagnóstico	Media	39.45	39.91	0.75
IMC	Media	27.43	30.27	0.018
Estado de <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i> en la línea germinal	Sin mutación	29 (62%)	44 (83%)	0.0005
	Con mutación	18 (38%)	9 (17%)	
Carcinoma bilateral	No	42 (89%)	48 (91%)	>0.9999
	Sí	5 (11%)	5 (9%)	
Múltiples tumores	No	41 (89%)	42 (79%)	0.2738
	Sí	5 (11%)	11(21%)	
TILs	Media	25	12.72	0.0034
	Altos	12 (26%)	2 (4%)	0.0028
	Bajos	35 (74%)	51 (96%)	
Grado de diferenciación	1	0 (0%)	2 (4%)	0.0149
	2	19 (40%)	9 (17%)	
	3	28 (60%)	42 (79%)	
Tipo molecular	Luminal	19 (40%)	29 (55%)	0.02
	TN	20 (43%)	24 (45%)	
	HER2	8 (17%)	0 (0%)	
Etapa clínica simplificada	I	1 (2%)	2 (4%)	0.5192
	II	17 (38%)	23 (43%)	
	III	24 (53%)	23 (43%)	
	IV	3 (7%)	5 (10%)	

La pCR se observó en el 66.7% de las pacientes con mutación en la línea germinal de *BRCA1* o *BRCA2*, mientras que solo se vio en el 39.7% de las que no tuvieron mutación ($p=0.0005$), indicando asociación de la pCR con el estado de *BRCA1* y *BRCA2* (OR: 3.034,

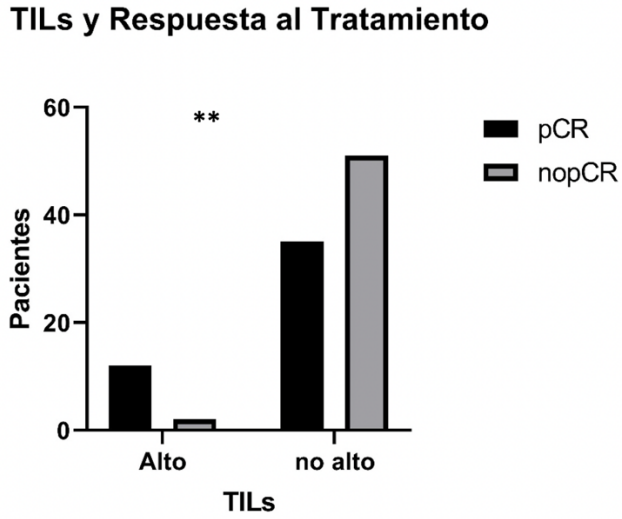
IC95% 1.177-7.187). Después del análisis por grupos moleculares, esto se confirmó solamente en los TN (OR: 4.5, IC95% 1.277-14.4, $p=0.0309$). No se pudo realizar comparación de los HER2 ya que no hubo ninguno con variante patogénica en la línea germinal de *BRCA1* o *BRCA2* (Figura 3), además de que todos tuvieron pCR. No hubo diferencias significativas en cuanto a la pCR entre los *BRCA1* y *BRCA2* mutados, con 62.5 y 72.7% de pCR, respectivamente ($p=0.69$).

Figura 3. Asociaciones entre respuesta a TNA, y estado de *BRCA1* y *BRCA2* en la línea germinal



De las pacientes a los que se les dio TNA, catorce pacientes tuvieron TILs altos (14%) y 86 (86%) TILs bajos. De los pacientes con neoadyuvancia y TILs altos, 12 (85%) tuvieron pCR, a diferencia de los que tuvieron TILs no altos, donde 35 pacientes tuvieron pCR (40%) y esto fue estadísticamente significativo ($p=0.0028$) (Figura 4).

Figura 4. Asociaciones entre respuesta a TNA y TILs dicotómico



P value and statistical significance	
Test	Fisher's exact test
P value	0.0028

Se realizó análisis univariado y multivariado sobre factores relacionados a la respuesta patológica completa (Tabla 10).

Tabla 10. Análisis univariado y multivariado respuesta patológica completa

Variables	Análisis univariado			Análisis multivariado		
	OR	IC95%	<i>p</i>	OR	IC95%	<i>p</i>
TILs (bajos vs altos)	0.1144	0.02475-0.5222	0.0028	0.494	0.166-1.47	0.205
Grado histológico (1-2 vs 3)	1.271	0.5822-2.845	0.6788			
Luminal vs TN	0.7862	0.3475-1.756	0.6737	Luminal 0.491	0.134-1.805	0.284
TN vs HER2	0	0-0.4675	0.0051	TN 1.248	0.432-3.606	0.682
HER2 vs luminal	0	0-0.5301	0.0075			
<i>BRCA</i> mutado vs no mutado	4.72	1.881-10.76	0.0005	5.196	1.746-15.462	0.003

Análisis de supervivencia

Se tuvo un tiempo de seguimiento promedio de 48.4 meses (rango 5.1-215). No hubo diferencias en el tiempo de seguimiento por grupos según estado de *BRCA1* y *BRCA2*; el grupo sin mutación en los genes *BRCA* tuvo un seguimiento de 48.9 meses y el grupo con mutación 46.4 ($p=0.97$). Del total de pacientes, 38 (22.6%) tuvieron recurrencia y 22 (13.1%) fallecieron. No hubo diferencias significativas en cuanto a la supervivencia libre de recurrencia ni global entre las pacientes con variante patogénica de *BRCA1* o *BRCA2* con las que no tuvieron mutación, ni tampoco entre las pacientes que tuvieron pCR o no (Figuras 5 y 6). Sin embargo, al comparar según tipos moleculares, aunque la supervivencia

libre de enfermedad fue igual entre los grupos ($p=0.7407$), la supervivencia global fue estadísticamente mayor para los luminales ($p=0.0035$) (Figura 7).

Figura 5. Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global según estado en la línea germinal de los genes BRCA1 y BRCA2

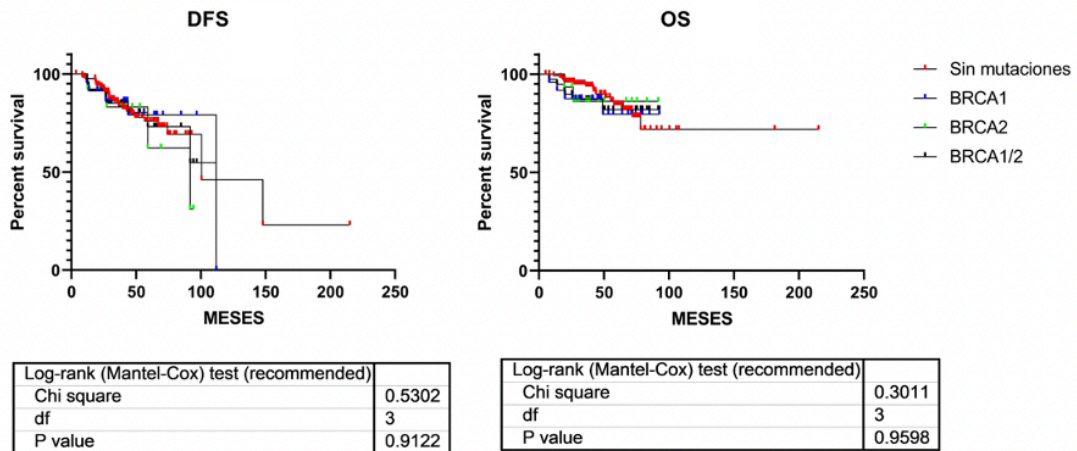


Figura 6. Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global según respuesta a TNA

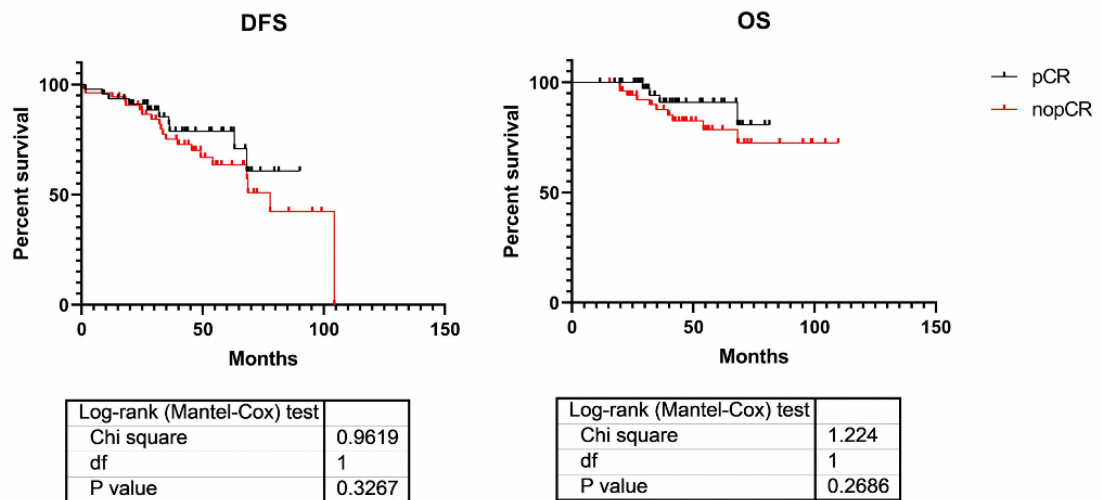
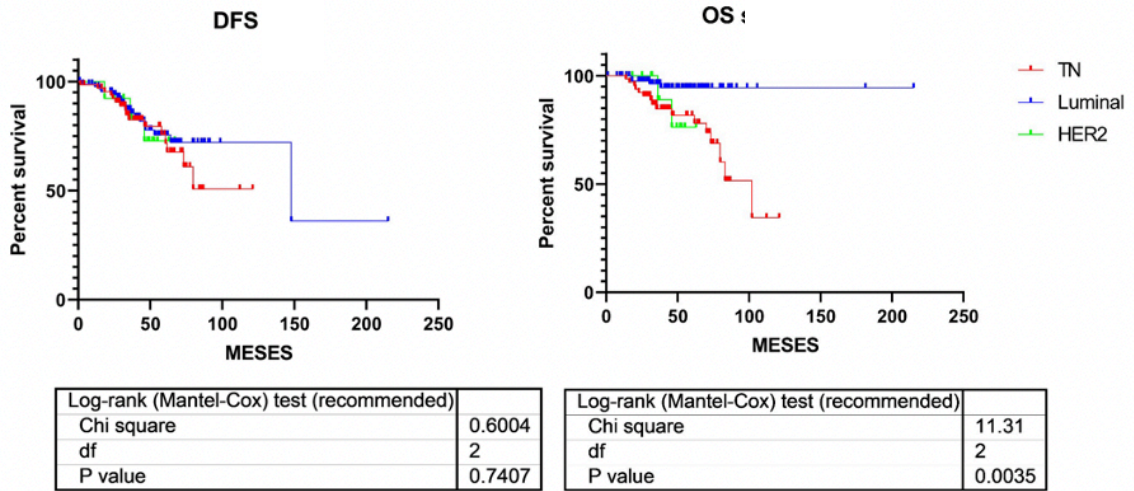
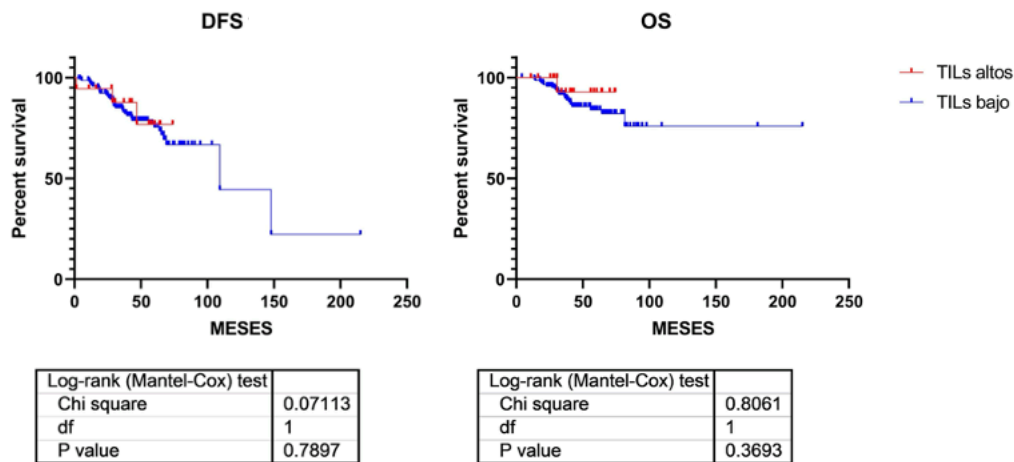


Figura 7. Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global según tipo molecular



No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a supervivencia libre de enfermedad ($p=0.79$) y global ($p=0.37$) según la presencia de TILs altos y no altos (Figura 8).

Figura 8. Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global según TILs



Se realizó análisis univariado y multivariado sobre factores relacionados al pronóstico (Tablas 11 y 12).

Tabla 11. Análisis univariado para supervivencia libre de enfermedad

VARIABLES	HR	IC95%	p
TILs (altos vs bajos)	0.8525	0.2823-2.575	0.7897
Grado histológico (1-2 vs 3)	0.6296	0.2339-1.695	0.289
Luminal vs TN	1.29	0.6509-2.556	0.4524
TN vs HER2	0.9513	0.2713-3.336	0.9357
HER2 vs luminal	0.8815	0.2451-3.17	0.8385
BRCA mutado vs no mutado	0.8913	0.4096-1.939	0.7621
pCR vs no PCR	0.8686	0.2968-2.542	0.7936

Tabla 12. Análisis univariado para supervivencia global

VARIABLES	Análisis univariado			Análisis multivariado		
	HR	IC95%	p	HR	IC95%	p
TILs (altos vs bajos)	0.4118	0.104-1.631	0.3693			
Grado histológico (1-2 vs 3)	0.03008	0.0034-0.2635	0.0016	0.545	0.163-1.82	0.324
Luminal vs TN	0.1903	0.07855-0.4609	0.0009	Luminal 0.185	0.027-1.282	0.088
TN vs HER2	1.09	0.2630-4.520	0.9054	TN 1.315	0.215-8.022	0.767
HER2 vs luminal	0.1612	0.01474-1.762	0.1347			
BRCA mutado vs no mutado	0.7609	0.2784-2.08	0.5565			
pCR vs no PCR	0.8686	0.1827-1.515	0.2686			

Capítulo 5 – Análisis y discusión de resultados

Características generales

La edad promedio del diagnóstico inicial en este tipo de pacientes se ha encontrado entre los 37 y 44.2 años (42)(171)(172), que concuerda con nuestros hallazgos (39.6 años).

De acuerdo Abulhair et al., la gran mayoría de los carcinomas son de tipo TNE (173). En estudios de poblaciones con alto riesgo, se ha encontrado prevalencia de 6%, 34% y 60% para los bien, moderado y poco diferenciados (159), lo cual es similar a lo identificado en este estudio con 4.8, 44 y 51.2%, respectivamente.

Sobre los tipos moleculares, en un estudio se encontró que eran luminales en el 46.8%, TN en el 40.6% y HER2 en el 12.3% (173), lo cual es similar a lo identificado en este estudio, con 53, 38.7 y 8.3%, respectivamente.

En nuestro estudio se encontró una prevalencia de variantes patogénicas en los genes *BRCA1* y *BRCA2* en un 23.2%, que es similar a otros estudios (20.6-30.9%) con poblaciones con factores de riesgo para carcinoma hereditario (171)(42)(172). Se identificaron mayoritariamente mutaciones en *BRCA1* (14.3%) y 8.9% asociados a *BRCA2*, que concuerda con estudios de Arabia Saudita (11% y 2%, respectivamente)(173), Turquía (13.6 y 12.3%, respectivamente)(172) y en familias hispanas (22.7 y 8.2%, respectivamente)(42), pero resalta contra estudios de Corea del Sur, donde se identificó mayoritariamente mutaciones en *BRCA2* (171).

CM asociado y no asociado a variantes patogénicas de *BRCA1* y *BRCA2*

Al igual que otros estudios (171)(42), no se identificaron diferencias significativas en cuanto a la edad al diagnóstico al subdividir por pacientes portadoras y no portadoras ($p=0.28$), aunque en el análisis de regresión lineal sí hubo asociación ($p=0.0088$). Por otro lado, al igual que en otro estudio (172) el IMC como variable continua no fue estadísticamente significativo entre los grupos ($p=0.28$), ni tampoco como variable cualitativa ($p=0.4737$).

En nuestro estudio, de las pacientes sin mutación, nueve (7%) tuvieron carcinoma bilateral, de acuerdo con otro estudio (8.5%) y siete (17.9%) de los carcinomas de pacientes con mutación en *BRCA1* o *BRCA2* fueron bilaterales, similar a lo reportado (20.4%). Aunque se observó una tendencia, la diferencia de frecuencia de bilateralidad no llegó a ser estadísticamente significativa entre los grupos ($p=0.06$), lo cual contrasta con el estudio de Noh et al. ($p=0.0169$) (171).

No identificamos diferencias significativas en cuanto a la etapa clínica según el estado de *BRCA1* y *BRCA2* en la línea germinal ($p=0.16$), que concuerda con otro estudio, además de que la distribución fue similar (172).

Grandal et al. (9) encontraron mayor frecuencia de historia familiar de cáncer en los pacientes en los que se les identificaron variantes patogénicas en la línea germinal de *BRCA1* y *BRCA2*, a comparación de los pacientes que no se les encontraron estas mutaciones (73.9 vs 52.3%), sin embargo este estudio no se hizo con pacientes de alto riesgo de CM hereditario; aunque esta frecuencia es mayor para ambos grupos que lo encontrado en el presente estudio (59 vs 28.7%, respectivamente), en ambos resultó

estadísticamente significativo ($p=0.0001$). Por otro lado, nosotros encontramos que las pacientes con mutaciones tenían por lo general mayor cantidad de familiares afectados con cáncer (mama, ovario y páncreas); un estudio de pacientes con alto riesgo de CM hereditario identificó que en el grupo de las pacientes portadoras de una variante patogénica, la historia familiar de CM y ovario era positiva en el 87.8% a diferencia de los que no eran portadoras, con prevalencia del 64% ($p=0.0014$)(171). Estas diferencias entre grupos, pueden ser debidas a que se sabe que la presentación de enfermedades asociadas a *BRCA1* y *BRCA2* son autosómicas dominantes, además de ser la mayor causa de CM hereditario (1), por lo que tiende a presentarse en más miembros de la familia que los CM asociados a genes asociados a enfermedades poligénicas.

De acuerdo con otros estudios ($p=0.451$), no se encontraron diferencias entre los tipos histológicos, según presencia o no de mutaciones en *BRCA1* o *BRCA2* ($p=0.37$) (172). Se observaron diferencias en cuanto al grado histológico entre grupos y esto fue estadísticamente significativo ($p=0.0002$), lo cual concuerda con lo identificado en un estudio ($p=0.001$) (172) que indica que hay mayor porcentaje de tumores poco diferenciados en los asociados a variantes patogénicas de *BRCA1* y *BRCA2*.

En cuanto a los grupos moleculares, el grupo sin mutaciones fueron predominantemente luminales, con 78 casos (60.5%), 37 fueron TN (28.7%) y 14 (10.8%) HER2, mientras que en el grupo con mutación en *BRCA1* o *BRCA2* fueron predominantemente TN, con 28 casos (71.8%), 11 luminales (28.2%) y no hubo HER2, y estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($p<0.0001$); Grandal et al., tuvo los mismos hallazgos, con 33.9, 37.6 y 28.5% luminales, TN y HER2, respectivamente, en el grupo no mutado y 32.6, 58.7 y 8.7% para los mutados ($p<0.01$) (9), aunque este estudio

no se hizo en una población con alto riesgo de carcinoma hereditario. No identificamos estudios de este mismo tipo de población que hicieran la división simplificada de los grupos moleculares, aunque Atci et al. encontraron una frecuencia mayor de TN en el grupo de las pacientes con mutación en *BRCA1* (56.1%), a diferencia de los que tenían mutación en *BRCA2* o no tenían mutación (29.7% y 32.2%, respectivamente) ($p=0.01$)(172); lo anterior también es concordante con nuestros hallazgos ya que 83.3% de los asociados a *BRCA1* eran TN, mientras que solo el 53.3% de los asociados a *BRCA2* lo fueron, aunque estas diferencias no resultaron estadísticamente significativos ($p=0.685$).

TILs

Se identificaron diferencias entre el grupo sin mutación con una media de 16.2% y con mutación con media de 23.6%, sin embargo, no llegó a ser estadísticamente significativo ($p=0.06$), esto de acuerdo con lo identificado por Grandal et al. ($p=0.78$), con una media de 20% en ambos grupos, aunque su estudio no se hizo en pacientes seleccionados con alto riesgo de carcinoma hereditario. Por otro lado, se han estudiado las diferencias entre pacientes con variantes patogénicas de *BRCA1* y *BRCA2*, y se ha encontrado un valor más alto entre los CM asociados a *BRCA1* (36%), que en los *BRCA2* (15%) ($p<0.0001$) (6) que, aunque en nuestro estudio no hubo una diferencia significativa ($p=0.09$), sí se observó una tendencia, con 28.6% y 15.6% de promedio para el grupo con mutación y sin mutación, respectivamente. No se identificaron estudios que evalúen los TILs en pacientes con alto riesgo de carcinoma hereditario y su consecuente relación con

el estado de *BRCA1* y *BRCA2* en la línea germinal. Por lo anterior, nuestro hallazgo con tendencia a la alta en la cantidad de TILs debe de evaluarse en el futuro para corroborar o descartar su significancia; este hallazgo puede estar relacionado a la alta prevalencia de CM TN que se tuvo en el grupo con mutación, que se sabe que suelen tener mayor cantidad de TILs (174).

En otro estudio con grupo control, pero que incluyó solamente CM TN, se encontró que los que no tenían mutación tenían menor frecuencia de TILs altos (75%), a diferencia del grupo con mutación en *BRCA1* y *BRCA2* (93.2%) ($p=0.037$) (108). Sin embargo, otro estudio de CM TN encontró que no hay asociación con los TILs y el estado de *BRCA1* y *BRCA2* ($p=0.391$) (175), que concordó con los hallazgos de Grandal et al. (9) en la fase de valoración de TILs pre-TNA, donde no encontraron diferencias según el estado de *BRCA1* y *BRCA2*, incluso al dividirlo por tipos moleculares (toda la población $p=0.78$, luminales $p=0.17$, TN $p=0.71$, HER2 $p=0.67$). Nosotros concordamos con Grandal et al. y Telli y colegas, en que no hay diferencias en cuanto a TILs según el estado de *BRCA1* y *BRCA2* ya que aunque pareció haber tendencia de mayor TILs en los mutados, ésta no llegó a ser estadísticamente significativa ($p=0.06$) (9)(175) y esto se mantuvo según el tipo molecular (luminales $p=0.1618$, TN $p=0.3183$).

Aunque los CM con alta cantidad de TILs suelen conformar un grupo pequeño en la mayoría de los estudios (110)(25), como lo encontramos en nuestra muestra (12.5%), los resultados de otros estudios indican que son un factor pronóstico en estos pacientes. Sin embargo, en nuestro estudio, aunque se encontró diferencia significativa para la pCR según la división dicotómica, no resultó ser un factor independiente en el análisis multivariado. Lo anterior puede ser debido a que nuestra población de alto riesgo suele tener mayor

cantidad de tumores TN y de altos grados que también influyen en la respuesta al tratamiento.

En el total de la población, los TILs tuvieron una media de 12.4, 22.2 y 33.3% para el tipo luminal, TN y HER2, respectivamente, concordando con el estudio de Grandal donde los luminales tienden a tener menores TILs; sin embargo nosotros observamos mayores TILs en HER2 que en TN, aunque esto no llegó a ser estadísticamente significativo ($p=0.2649$) (9), pero sí entre los luminales contra TN ($p=0.0169$) y luminales vs HER2 ($p=0.0201$) y estos hallazgos van de acuerdo con la literatura (176).

Al igual que en otros estudios, según el análisis de regresión múltiple con el método de Poisson para las variables cuantitativas sobre los TILs, se identificó relación con el grado de diferenciación ($p<0.0001$) (177), aunque esto contrasta con el estudio de Belkacem et al. (178). En contraste con otro estudio, sí se identificó asociación de los TILs con la edad al diagnóstico ($p<0.0001$) (178), aunque no se identificó asociación en relación al tiempo para recurrencia ($p=0.64$) ni al fallecimiento ($p=0.79$) como ellos. Por otro lado, Takada et al, identificaron que hay asociación entre el IMC y los TILs, lo cual también identificamos nosotros (179).

Como se mencionó, en este estudio solamente se estudiaron los TILs estromales ya que, aunque también los intratumorales correlacionan con el desenlace, los estromales son más prevalentes, variables en cantidad y reproducibles (96). Estudios recientes han seguido estudiando el valor de los TILs intratumorales, pero no han encontrado diferencias en estos entre los grupos con y sin variantes patogénicas ($p=0.47$) (9).

Respuesta a la TNA

No se identificaron estudios que evaluaran la respuesta a TNA en pacientes con alto riesgo de carcinoma hereditario, comparando basado en la presencia o ausencia de variantes patogénicas de *BRCA1* y *BRCA2*, y que analizaran a la muestra según el tipo molecular o TILs. Por lo anterior, las comparaciones aquí descritas no son completamente equivalentes.

En este estudio, cien pacientes fueron tratadas con TNA y de estos 47% tuvo pCR, que es similar el estudio de Sant'Ana et al. de Brazil, donde con una muestra también de 100 pacientes, hubo pCR en el 43% (180). En el análisis univariado, el grado histológico alto, no resultó ser predictor de respuesta patológica a TNA, a diferencia de lo encontrado por Hwant et al., donde resultó un OR de 3.3 (IC95% 1.45-7.52, $p=0.005$), sin embargo en el análisis multivariado dejó de haber diferencias significativas (181).

Se observaron diferencias en cuanto a respuesta al tratamiento según el tipo molecular, con el 39, 45 y 100% de pCR para los luminales, TN y HER2 ($p=0.0163$), lo cual es similar a los hallazgos del estudio de Carey et al. donde se encontró respuesta en el 7, 27 y 36% respectivamente, aunque este estudio no se hizo en población de alto riesgo de CM hereditario (71).

Por otro lado, los TILs fueron significativamente mayores en aquellos con pCR (media 25%) que en los que no (12.7%) ($p=0.034$). Lo anterior va acorde a múltiples estudios de la literatura, donde se ha demostrado que a mayores TILs, hay mejor respuesta a tratamiento con antraciclinas y taxanos (107)(108), y han sido muy contundentes en tumores TN y HER2 (3)(109).

En este estudio, al realizar el análisis en división dicotómica de los TILs, 26% de los que tuvieron pCR tuvieron TILs altos mientras que solo 4% de los que no tuvieron pCR tuvieron TILs altos, o visto de otra manera donde, de los pacientes con neoadyuvancia y TILs altos, 12 (85%) tuvieron pCR, a diferencia de los que tuvieron TILs no altos, donde 35 pacientes tuvieron pCR (40%) ($p=0.0028$); por lo anterior, se llegó a catalogar los TILs altos como factor predictivo de pCR (OR 0.1144, IC95% 0.02475-0.5222, $p=0.0028$) (Tabla 9), en concordancia con otros estudios (181)(182), aunque estos estudios no se realizaron en pacientes con alto riesgo de carcinoma hereditario. Sin embargo, al realizar el análisis multivariado, no resultaron ser un factor independiente a la pCR ($p=0.205$).

Por otro lado, se observó pCR en el 66.7% de las pacientes con mutación en la línea germinal de *BRCA1* o *BRCA2*, mientras que solo se vio en el 39.7% de las que no tuvieron mutación ($p=0.0005$) (OR: 4.72, IC95% 1.881-10.76), lo cual concuerda con múltiples estudios, donde encontraron pCR en el 54.3% de los casos con mutaciones y 22.6-28.6% del otro grupo, con un OR de 2.48 (IC95% 1.26-4.91) (183)(33)(9)(184)(185)(107)(108). Además, en el análisis multivariado, siguió siendo estadísticamente significativo, por lo que se considera un factor predictivo independiente (OR: 5.196, IC95% 1.746-15.462 $p=0.003$). Esta asociación ha sido tan contundente que incluso han llegado a diseñar nomogramas para, dependiendo de ésta y otras variables, determinar la probabilidad de pCR (181). Por otra parte, Grandal et al. identificaron que solo los luminales con mutación en *BRCA1* o *BRCA2* tuvieron mayor pCR y la diferencia fue estadísticamente significativa contra los que no tenían estas variantes patogénicas (9). En contraste, en el estudio de Oliveira Sant'Ana et al. no se encontraron diferencias en este punto ($p=0.84$)(180), el cual es el único estudio identificado que evalúa la respuesta a TNA en pacientes con alto riesgo

de CM hereditario, que compara grupos con y sin mutación de *BRCA1* y *BRCA2*; este hallazgo puede ser debido a que en su estudio solo el 14% de los pacientes tuvieron pCR, que es muy inferior a lo reportado por la literatura de estudios no enfocados en poblaciones de alto riesgo (9), que puede dar poca fuerza estadística a sus análisis. En este estudio, se encontró que hay diferencias en cuanto al significado del estado de *BRCA1* y *BRCA2* según el tipo molecular ya que solamente en los TN se observaron diferencias significativas en este punto. En específico, se ha encontrado que tener mutación en *BRCA1* es un factor pronóstico predictivo de pCR (OR:3.16, IC95% 1.55-6.42, $p=0.002$) (33).

Nuestros hallazgos y los de otros estudios se deben a que se sabe que los genes *BRCA1* y *BRCA2* tienen un rol en la reparación del ADN y sus mutaciones los hacen más sensibles a agentes que dañan esta estructura (154); por lo anterior, es importante determinar la presencia de estas variantes patogénicas ya que existe evidencia que sugiere fuertemente que las portadoras de mutación en *BRCA1* y *BRCA2* se benefician de quimioterapia basada en platinos como primera línea de tratamiento, en lugar de taxanos (1) y en consecuencia tendrían mayor tasa de pCR.

Supervivencia

No se identificaron diferencias significativas en cuanto a supervivencia libre de enfermedad según el grado histológico, el subtipo molecular o la pCR. Esto contrasta con los hallazgos de Hwang et al., quien sí identificó diferencias en el análisis univariado para la pCR, aunque en el análisis multivariado dejó de ser significativo (181), esta diferencia

puede deberse a que su muestra era casi del doble que la nuestra y que su población no era de alto riesgo, que suelen ser tumores menos respondedores a TNA. Sin embargo, para el análisis de supervivencia global, se encontraron diferencias significativas en el análisis univariado según grado y tipo molecular (luminal vs TN), aunque ya no se encontraron estas diferencias al realizar análisis multivariado; estos hallazgos son semejantes a los conocidos en otros tipos de poblaciones (186)(187).

No hubo diferencias significativas en cuanto a la supervivencia libre de recurrencia ni global entre los pacientes con variante patogénica de *BRCA1* o *BRCA2* y los que no tuvieron mutación, esto de acuerdo a la mayoría de las investigaciones (188)(160)(159)(9)(189)(116). Tampoco se observaron diferencias entre las pacientes que tuvieron pCR o no (Figuras 5 y 6). Sin embargo, al comparar entre los diferentes tipos moleculares, aunque la supervivencia libre de enfermedad fue igual entre los grupos ($p=0.7407$), la supervivencia global fue estadísticamente mayor para los luminales ($p=0.0035$), lo cual es bien conocido, con números similares y supervivencias de 90.7-94.4%, 84.4%, y 77.1% a 5 años para los luminales, HER2 y TN, respectivamente (190).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a supervivencia libre de enfermedad ($p=0.79$) y global ($p=0.37$) según la presencia de TILs altos y no altos (Figura 8), que contrasta con el estudio de Loi et al., donde los TILs fueron evaluados como una variable continua y cada incremento del 10% se asoció con reducción del riesgo de recurrencia a distancia del 13% (25), y con los resultados de He et al., donde se encontró asociación de TILs altos con supervivencia a largo plazo (111). Esta diferencia podría deberse a que nuestro estudio incluyó solo pacientes con alto riesgo de carcinoma hereditario que, aunque se compararon grupos con y sin mutación en *BRCA1* y *BRCA2*, los

negativos a mutación podrían estar asociados a otras mutaciones aún no identificadas que pueden tener la misma relación con mala supervivencia.

La diferencia entre la relevancia de los TILs en la respuesta a TNA y supervivencia podría deberse a que aunque existen tendencia (108)(6) a encontrar mayores TILs en los CM asociados a variantes patogénicas de *BRCA1* y *BRCA2*, indicando que hay respuesta del huésped contra el tumor, muchos estudios indican que las pacientes con variante patogénica de *BRCA1* tienen mayor probabilidad de ser diagnosticadas con un CM TN (57-75%)(135)(136)(137)(34), a diferencia de los esporádicos (15-20%) (34)(138), que se sabe que tienen mayor respuesta a la TNA (83) y esto esté probablemente asociado a mayor cantidad de TILs, aunque también asociados menor sobrevida a largo plazo (186), a diferencia de los luminales.

Entre las limitaciones del estudio, están el diseño retrospectivo, la muestra pequeña que lleva a una falta de poder estadístico en algunos de los análisis y la ausencia de pacientes con tipo molecular HER2 con variante patogénica en *BRCA1* y *BRCA2* o con ausencia de pCR lo que limita la comparación de estos aspectos, aunque de igual forma otros estudios han tenido pocos de estos casos (0-8%)(40). Por otro lado a diferencia de un estudio similar con 90.4 meses, que evalúa estos mismos aspectos, aunque sin enfocarse en una muestra de pacientes con alto riesgo de carcinoma hereditario, nosotros tuvimos un seguimiento promedio de 48.4 meses, lo que limita los resultados en los análisis de supervivencia (9). Además, la evaluación de los TILs fue heterogénea ya que 11 de los casos (6.6%) fueron evaluados en mastectomías con TNA, y existen estudios que demuestran que hay elevación significativa ($p=0.003$) de estos con ella (182). Asimismo,

la fecha de los diagnósticos iniciales varió desde el 2003 hasta el 2019, rango de tiempo donde las terapias tuvieron variaciones significativas (191). Otra limitación es que no se pudo dividir a los grupos moleculares en luminales A y B, por la falta de información en el expediente de algunos pacientes.

Entre las fortalezas del estudio, se encuentra que se incluyeron todos los tipos moleculares simplificados y se hicieron análisis por estos subgrupos, además de que se excluyeron pacientes con hallazgos de mutaciones en otros genes asociados al CM, que pudieran causar errores en el análisis, por las diferentes vías oncogénicas que existen y que ya están estudiadas. Por otro lado, es el primer estudio en pacientes mexicanas que intenta determinar la importancia clínico-patológica del estado de *BRCA1* y *BRCA2* en la línea germinal, centrado en pacientes con alto riesgo de carcinoma hereditario, con inclusión de todos los tipos moleculares y con enfoque a los TILs, respuesta patológica al TNA y supervivencia.

Futuros estudios deberían enfocarse en estudiar el grupo de pacientes con alto riesgo de carcinoma hereditario, ya que parece ser que los TILs en este tipo de pacientes tienen relevancia para la pCR. Además, realizar estudios en este tipo de población, con mayor seguimiento es fuertemente recomendado para determinar si la supervivencia se mantiene igual entre grupos a través del paso del tiempo.

Capítulo 6 – Conclusión

Pese a que no fue estadísticamente significativo ($p=0.06$), existe una tendencia al alza en el porcentaje de TILs en pacientes con mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* comparado con las pacientes sin estas mutaciones.

Según el análisis univariado para pCR, ni el grado ni el tipo molecular son factores predictivos de pCR, mientras que los TILs altos y la presencia de mutación en la línea germinal de *BRCA1* o *BRCA2* sí lo fueron. Siendo la mutación de *BRCA1* o *BRCA2* un factor predictivo de pCR independiente según el análisis multivariado (OR 5.196, IC 95% 1.746-15.462, $p=0.003$).

Por otro lado, de acuerdo con el análisis univariado para recurrencia, ni los TILs dicotómicos (bajos vs. altos), el grado histológico, la presencia de mutación la línea germinal de *BRCA1* o *BRCA2*, ni la respuesta a TNA son factores pronósticos. En el análisis de supervivencia global, solamente el grado histológico bajo y el subtipo luminal, a comparación del TN, son factores predictivos de buen pronóstico, aunque no son factores pronósticos independientes según el análisis multivariado.

En este estudio, se observó mayor frecuencia de AHF de CM comparado con las pacientes que no tienen estas mutaciones.

Se deben de realizar esfuerzos de incorporar la realización de pruebas genéticas por su valor predictivo independiente de pCR.

Por otro lado, es recomendable realizar evaluación rutinaria de los TILs en estas pacientes, incluso en pacientes con inmunofenotipo luminal, ya que esto da información predictiva sin incrementar el costo del análisis patológico.

Referencias

1. Haddad CF. Hereditary breast cancer: review and current approach. *Mastology*. 2020;30:e20200042.
2. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol*. febrero de 2015;26(2):259–71.
3. TILs Indicate Outcome in Young Patients Not Receiving Systemic [Internet]. [citado el 30 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.esmo.org/oncology-news/tils-indicate-outcome-in-young-patients-not-receiving-systemic-adjuvant-treatment-for-tnbc>
4. Dieci MV, Miglietta F, Guarneri V. Immune Infiltrates in Breast Cancer: Recent Updates and Clinical Implications. *Cells*. el 23 de enero de 2021;10(2):223.
5. Cárdenas-Sánchez J, Bargalló-Rocha JE, Bautista Piña V, Cervantes-Sánchez G, Erazo-Valle-Solís AA, Flores-Balcázar CH, et al. Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario. *GAMO*. el 30 de enero de 2019;16(91):725.
6. Sønderstrup IMH, Jensen MB, Ejlersen B, Eriksen JO, Gerdes AM, Kruse TA, et al. Evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes and association with prognosis in BRCA-mutated breast cancer. *Acta Oncol*. marzo de 2019;58(3):363–70.
7. Gomez-Macias GS, Molinar-Flores G, Lopez-Garcia CA, Santuario-Facio S, Decanini-Arcaute H, Valero-Elizondo J, et al. Immunotyping of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancer and genetic characterization. *Oncology Letters*. el 1 de noviembre de 2020;20(5):1–1.
8. Viale G, Fusco N. Pathology after neoadjuvant treatment – How to assess residual disease. *The Breast* [Internet]. el 16 de noviembre de 2021 [citado el 24 de marzo de 2022]; Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960977621009905>
9. Grandal B, Evrevin C, Laas E, Jardin I, Rozette S, Laot L, et al. Impact of BRCA Mutation Status on Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs), Response to Treatment, and Prognosis in

- Breast Cancer Patients Treated with Neoadjuvant Chemotherapy. *Cancers*. diciembre de 2020;12(12):3681.
10. Simms L, Barraclough H, Govindan R. Biostatistics Primer: What a Clinician Ought to Know—Prognostic and Predictive Factors. *Journal of Thoracic Oncology*. junio de 2013;8(6):808–13.
 11. Chen JM, Qu AP, Wang LW, Yuan JP, Yang F, Xiang QM, et al. New breast cancer prognostic factors identified by computer-aided image analysis of HE stained histopathology images. *Sci Rep*. el 29 de mayo de 2015;5(1):10690.
 12. Clinicopathological classification and traditional prognostic indicators of breast cancer - PubMed [Internet]. [citado el 30 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26339424/>
 13. AJCC. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8th ed. 2017.
 14. Bossuyt V, Spring L. Pathologic evaluation of response to neoadjuvant therapy drives treatment changes and improves long-term outcomes for breast cancer patients. *Breast J*. junio de 2020;26(6):1189–98.
 15. Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov*. enero de 2022;12(1):31–46.
 16. He L, Wang Y, Wu Q, Song Y, Ma X, Zhang B, et al. Association between levels of tumor-infiltrating lymphocytes in different subtypes of primary breast tumors and prognostic outcomes: a meta-analysis. *BMC Women's Health*. el 5 de septiembre de 2020;20(1):194.
 17. Khoury T, Nagrale V, Opyrchal M, Peng X, Wang D, Yao S. Prognostic Significance of Stromal Versus Intratumoral Infiltrating Lymphocytes in Different Subtypes of Breast Cancer Treated with Cytotoxic Neoadjuvant Chemotherapy. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. septiembre de 2018;26(8):523–32.
 18. Home - International TILS Working Group [Internet]. [citado el 27 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.tilsinbreastcancer.org/>

19. Adams S, Schmid P, Rugo HS, Winer EP, Loirat D, Awada A, et al. Pembrolizumab monotherapy for previously treated metastatic triple-negative breast cancer: cohort A of the phase II KEYNOTE-086 study. *Ann Oncol.* el 1 de marzo de 2019;30(3):397–404.
20. Dieci MV, Criscitiello C, Goubar A, Viale G, Conte P, Guarneri V, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes on residual disease after primary chemotherapy for triple-negative breast cancer: a retrospective multicenter study. *Ann Oncol.* marzo de 2014;25(3):611–8.
21. Dieci MV, Conte P, Bisagni G, Brandes AA, Frassoldati A, Cavanna L, et al. Association of tumor-infiltrating lymphocytes with distant disease-free survival in the ShortHER randomized adjuvant trial for patients with early HER2+ breast cancer. *Ann Oncol.* el 1 de marzo de 2019;30(3):418–23.
22. Conte P, Frassoldati A, Bisagni G, Brandes AA, Donadio M, Garrone O, et al. Nine weeks versus 1 year adjuvant trastuzumab in combination with chemotherapy: final results of the phase III randomized Short-HER study[‡]. *Ann Oncol.* el 1 de diciembre de 2018;29(12):2328–33.
23. Denkert C, von Minckwitz G, Darb-Esfahani S, Lederer B, Heppner BI, Weber KE, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy. *Lancet Oncol.* el 1 de enero de 2018;19(1):40–50.
24. Solinas C, Ceppi M, Lambertini M, Scartozzi M, Buisseret L, Garaud S, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes in patients with HER2-positive breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy plus trastuzumab, lapatinib or their combination: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Cancer Treat Rev.* junio de 2017;57:8–15.
25. Loi S, Michiels S, Salgado R, Sirtaine N, Jose V, Fumagalli D, et al. Tumor infiltrating lymphocytes are prognostic in triple negative breast cancer and predictive for trastuzumab benefit in early breast cancer: results from the FinHER trial. *Ann Oncol.* agosto de 2014;25(8):1544–50.
26. Loi S, Sirtaine N, Piette F, Salgado R, Viale G, Van Eenoo F, et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with

- doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98. *J Clin Oncol.* el 1 de marzo de 2013;31(7):860–7.
27. Ali HR, Provenzano E, Dawson SJ, Blows FM, Liu B, Shah M, et al. Association between CD8+ T-cell infiltration and breast cancer survival in 12,439 patients. *Ann Oncol.* agosto de 2014;25(8):1536–43.
 28. Sobral-Leite M, Salomon I, Opdam M, Kruger DT, Beelen KJ, van der Noort V, et al. Cancer-immune interactions in ER-positive breast cancers: PI3K pathway alterations and tumor-infiltrating lymphocytes. *Breast Cancer Res.* el 7 de agosto de 2019;21(1):90.
 29. Criscitiello C, Vingiani A, Maisonneuve P, Viale G, Viale G, Curigliano G. Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in ER+/HER2- breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* septiembre de 2020;183(2):347–54.
 30. Campos GFC, Naranjo EGB, Fallas YMG. Cáncer de mama asociado a mutación en genes BRCA-1 y BRCA-2. *Revista Medica Sinergia.* el 1 de marzo de 2021;6(3):e650–e650.
 31. Korde LA, Somerfield MR, Carey LA, Crews JR, Denduluri N, Hwang ES, et al. Neoadjuvant Chemotherapy, Endocrine Therapy, and Targeted Therapy for Breast Cancer: ASCO Guideline. *Journal of Clinical Oncology* [Internet]. el 28 de enero de 2021 [citado el 3 de junio de 2022]; Disponible en: <https://ascopubs.org/doi/pdf/10.1200/JCO.20.03399>
 32. Pease AM, Riba LA, Gruner RA, Tung NM, James TA. Oncotype DX® Recurrence Score as a Predictor of Response to Neoadjuvant Chemotherapy. *Ann Surg Oncol.* febrero de 2019;26(2):366–71.
 33. Arun B, Bayraktar S, Liu DD, Gutierrez Barrera AM, Atchley D, Pusztai L, et al. Response to Neoadjuvant Systemic Therapy for Breast Cancer in BRCA Mutation Carriers and Noncarriers: A Single-Institution Experience. *J Clin Oncol.* el 1 de octubre de 2011;29(28):3739–46.
 34. Gonzalez-Angulo AM, Timms KM, Liu S, Chen H, Litton JK, Potter J, et al. Incidence and outcome of BRCA mutations in unselected patients with triple receptor-negative breast cancer. *Clin Cancer Res.* el 1 de marzo de 2011;17(5):1082–9.

35. Villarreal-Garza C, Alvarez-Gómez RM, Pérez-Plasencia C, Herrera LA, Herzog J, Castillo D, et al. Significant clinical impact of recurrent BRCA1 and BRCA2 mutations in Mexico. *Cancer*. el 1 de febrero de 2015;121(3):372–8.
36. Nahleh Z, Otoukesh S, Dwivedi AK, Mallawaarachchi I, Sanchez L, Saldivar JS, et al. Clinical and pathological characteristics of Hispanic BRCA-associated breast cancers in the American-Mexican border city of El Paso, TX. *Am J Cancer Res*. 2015;5(1):466–71.
37. Chavarri-Guerra Y, Villarreal-Garza C, Ferrigno AS, Mohar A, Aguilar D, Alvarez-Gomez RM, et al. Germline pathogenic variants in Mexican patients with hereditary triple-negative breast cancer. *Salud Pública de México*. el 25 de febrero de 2022;64(1):41–8.
38. Calderón-Garcidueñas AL, Ruiz-Flores P, Cerda-Flores RM, Barrera-Saldaña HA. Estudio de seguimiento clínico de mujeres mexicanas con cáncer de mama de inicio temprano y mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2. *salud publica mex*. 2005;47(2):110–5.
39. Cancer today [Internet]. [citado el 16 de junio de 2022]. Disponible en: <http://gco.iarc.fr/today/home>
40. Kim EK, Park SY, Kim SW. Clinicopathological characteristics of BRCA-associated breast cancer in Asian patients. *J Pathol Transl Med*. julio de 2020;54(4):265–75.
41. Weitzel JN, Lagos VI, Cullinane CA, Gambol PJ, Culver JO, Blazer KR, et al. Limited family structure and BRCA gene mutation status in single cases of breast cancer. *JAMA*. el 20 de junio de 2007;297(23):2587–95.
42. Weitzel JN, Lagos V, Blazer KR, Nelson R, Ricker C, Herzog J, et al. Prevalence of BRCA mutations and founder effect in high-risk Hispanic families. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. julio de 2005;14(7):1666–71.
43. Tan PH, Ellis I, Allison K, Brogi E, Fox SB, Lakhani S, et al. The 2019 World Health Organization classification of tumours of the breast. *Histopathology*. agosto de 2020;77(2):181–5.
44. Ko SM, Lee J, Bae SJ, Baik SJ, Ji J, Kim D, et al. Body mass index and absolute lymphocyte count predict disease-free survival in Korean breast cancer patients. *Br J Cancer*. julio de 2021;125(1):119–25.

45. Padmanabhan N, Subramanyan A, Radhakrishna S. Synchronous Bilateral Breast Cancers. *J Clin Diagn Res.* septiembre de 2015;9(9):XC05–8.
46. Ilić I. Multifocality, Multicentricity, and Bilaterality of Breast Cancer [Internet]. *Breast Cancer - Evolving Challenges and Next Frontiers.* IntechOpen; 2021 [citado el 3 de junio de 2022]. Disponible en: <https://www.intechopen.com/chapters/undefined/state.item.id>
47. Gollamudi SV, Gelman RS, Peiro G, Schneider LJ, Schnitt SJ, Recht A, et al. Breast-conserving therapy for Stage I-II synchronous bilateral breast carcinoma. *Cancer.* 1997;79(7):1362–9.
48. Vuoto HD, García AM, Candás GB, Zimmermann AG, Uriburu JL, Isetta JAM, et al. Bilateral breast carcinoma: clinical characteristics and its impact on survival. *Breast J.* diciembre de 2010;16(6):625–32.
49. McCaul KA. Bilateral breast cancer incidence and survival [Internet] [Thesis]. 2006 [citado el 25 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://digital.library.adelaide.edu.au/dspace/handle/2440/37870>
50. Bevers TB. *Breast Cancer Screening and Diagnosis.* NCCN; 2021.
51. Khatib OMN, Modjtabai A, World Health Organization, Regional Office for the Eastern Mediterranean. *Guidelines for the early detection and screening of breast cancer.* Cairo: World Health Organization, Regional Office for the Eastern Mediterranean; 2006.
52. Wright H, Listinsky J, Rim A, Chellman-Jeffers M, Patrick R, Rybicki L, et al. Magnetic resonance imaging as a diagnostic tool for breast cancer in premenopausal women. *The American Journal of Surgery.* octubre de 2005;190(4):572–5.
53. Spak DA, Plaxco JS, Santiago L, Dryden MJ, Dogan BE. BI-RADS® fifth edition: A summary of changes. *Diagn Interv Imaging.* marzo de 2017;98(3):179–90.
54. Mitchel Barry MD. Follow-Up for Women with Abnormal Mammograms. *NEJM Journal Watch* [Internet]. el 14 de abril de 2011 [citado el 20 de julio de 2022];2011. Disponible en: <https://www.jwatch.org/WH201104140000001/2011/04/14/follow-women-with-abnormal-mammograms>

55. Guide to Mammography Reports: BI-RADS Terminology [Internet]. [citado el 20 de julio de 2022]. Disponible en: <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2010/0715/p114.html>
56. Versaggi SL, De Leucio A. Breast Biopsy. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 [citado el 3 de junio de 2022]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559147/>
57. You K, Park S, Ryu JM, Kim I, Lee SK, Yu J, et al. Comparison of Core Needle Biopsy and Surgical Specimens in Determining Intrinsic Biological Subtypes of Breast Cancer with Immunohistochemistry. *J Breast Cancer*. septiembre de 2017;20(3):297–303.
58. Cleary AS, Lester SC. The Critical Role of Breast Specimen Gross Evaluation for Optimal Personalized Cancer Care. *Surgical Pathology Clinics*. el 1 de marzo de 2022;15(1):121–32.
59. Protocol for the Examination of Resection Specimens From Patients With Invasive Carcinoma of the Breast [Internet]. CAP; 2020. Disponible en: <https://documents.cap.org/protocols/cp-breast-invasive-resection-20-4400.pdf>
60. Template for Reporting Results of Biomarker Testing of Specimens From Patients With Carcinoma of the Breast. 2020.
61. Schick J, Ritchie RP, Restini C. Breast Cancer Therapeutics and Biomarkers: Past, Present, and Future Approaches. *Breast Cancer (Auckl)*. el 1 de enero de 2021;15:1178223421995854.
62. Krishnamurti U, Silverman JF. HER2 in Breast Cancer: A Review and Update. *Advances in Anatomic Pathology*. marzo de 2014;21(2):100–7.
63. Davey MG, Hynes SO, Kerin MJ, Miller N, Lowery AJ. Ki-67 as a Prognostic Biomarker in Invasive Breast Cancer. *Cancers (Basel)*. el 3 de septiembre de 2021;13(17):4455.
64. Zhang J, Wang N, Zheng T, Lu T, Zhang R, Ran R, et al. Germline Mutational Landscape in Chinese Patients With Advanced Breast Cancer. *Frontiers in Oncology* [Internet]. 2022 [citado el 26 de mayo de 2022];12. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fonc.2022.745796>

65. Lombardi A, Lazzeroni R, Bersigotti L, Vitale V, Amanti C. <p>The Proper Ki-67 Cut-Off in Hormone Responsive Breast Cancer: A Monoinstitutional Analysis with Long-Term Follow-Up</p>. BCTT. el 7 de abril de 2021;13:213–7.
66. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann 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.* agosto de 2011;22(8):1736–47.
67. Polley MYC, Leung SCY, McShane LM, Gao D, Hugh JC, Mastropasqua MG, et al. An International Ki67 Reproducibility Study. *J Natl Cancer Inst.* el 18 de diciembre de 2013;105(24):1897–906.
68. You CP, Leung MH, Tsang WC, Khoo US, Tsoi H. Androgen Receptor as an Emerging Feasible Biomarker for Breast Cancer. *Biomolecules.* el 4 de enero de 2022;12(1):72.
69. Breast Cancer Molecular Subtypes [Internet]. Cancer Treatment Centers of America. 2018 [citado el 4 de junio de 2022]. Disponible en: <https://www.cancercenter.com/cancer-types/breast-cancer/types/breast-cancer-molecular-types>
70. Molecular Subtypes of Breast Cancer [Internet]. [citado el 4 de junio de 2022]. Disponible en: <https://www.breastcancer.org/types/molecular-subtypes>
71. 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.* el 15 de abril de 2007;13(8):2329–34.
72. Horvath E. Subtipos moleculares del cáncer mamario - lo que el radiólogo dedicado a imágenes mamarias debe saber. *Rev chil radiol.* abril de 2021;27(1):17–26.
73. Gradishar WJ. Breast Cancer [Internet]. NCCN; 2022. Disponible en: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/breast.pdf
74. Nixon MJ, Formisano L, Mayer IA, Estrada MV, González-Ericsson PI, Isakoff SJ, et al. PIK3CA and MAP3K1 alterations imply luminal A status and are associated with clinical benefit from pan-PI3K inhibitor buparlisib and letrozole in ER+ metastatic breast cancer. *npj Breast Cancer.* el 23 de septiembre de 2019;5(1):1–9.

75. de Jong VMT, Wang Y, ter Hoeve ND, Opdam M, Stathonikos N, Józwiak K, et al. Prognostic Value of Stromal Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Young, Node-Negative, Triple-Negative Breast Cancer Patients Who Did Not Receive (neo)Adjuvant Systemic Therapy. *JCO*. el 30 de marzo de 2022;JCO.21.01536.
76. Differences in Breast Cancer Survival by Molecular Subtypes in the United States | Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention | American Association for Cancer Research [Internet]. [citado el 14 de junio de 2022]. Disponible en: <https://aacrjournals.org/cebpa/article/27/6/619/71580/Differences-in-Breast-Cancer-Survival-by-Molecular>
77. Aldrees R, Gao X, Zhang K, Siegal GP, Wei S. Validation of the revised 8th AJCC breast cancer clinical prognostic staging system: analysis of 5321 cases from a single institution. *Mod Pathol*. febrero de 2021;34(2):291–9.
78. Ades F, Tryfonidis K, Zardavas D. The past and future of breast cancer treatment—from the papyrus to individualised treatment approaches. *Ecancermedicalscience*. el 8 de junio de 2017;11:746.
79. Wang Y, Acs B, Robertson S, Liu B, Solorzano L, Wählby C, et al. Improved breast cancer histological grading using deep learning. *Annals of Oncology*. el 1 de enero de 2022;33(1):89–98.
80. 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 - ELSTON - 1991 - Histopathology - Wiley Online Library [Internet]. [citado el 14 de junio de 2022]. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2559.1991.tb00229.x>
81. Mauri D, Pavlidis N, Ioannidis JPA. Neoadjuvant versus adjuvant systemic treatment in breast cancer: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*. el 2 de febrero de 2005;97(3):188–94.
82. 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*. el 10 de febrero de 2008;26(5):778–85.

83. Oyman A. Impact of Breast Cancer Subtypes on Pathological Complete Response Following Neoadjuvant Chemotherapy. *EJMI* [Internet]. 2022 [citado el 13 de junio de 2022]; Disponible en: <https://www.ejmi.org/10.14744/ejmi.2022.84390/>
84. Baker GM. The Macroscopic and Microscopic Evaluation of Breast and Axillary Lymph Node Specimens Following Neoadjuvant Systemic Therapy for Breast Cancer. En: Soran A, Nakhlis F, editores. *Management of the Breast and Axilla in the Neoadjuvant Setting* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2022 [citado el 6 de junio de 2022]. p. 19–45. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-030-88020-0_2
85. Ploumen RAW, Keymeulen KBMI, Kooreman LFS, van Kuijk SMJ, Siesling S, Smidt ML, et al. The percentage of residual DCIS in patients diagnosed with primary invasive breast cancer treated with neoadjuvant systemic therapy: A nationwide retrospective study. *European Journal of Surgical Oncology*. el 1 de enero de 2022;48(1):60–6.
86. Peintinger F, Sinn B, Hatzis C, Albarracin C, Downs-Kelly E, Morkowski J, et al. Reproducibility of residual cancer burden for prognostic assessment of breast cancer after neoadjuvant chemotherapy. *Mod Pathol*. julio de 2015;28(7):913–20.
87. Residual Cancer Burden Calculator [Internet]. MD Anderson Cancer Center. [citado el 25 de mayo de 2022]. Disponible en: <http://www3.mdanderson.org/app/medcalc/index.cfm?pagename=jsconvert3>
88. Cain H, Macpherson IR, Beresford M, Pinder SE, Pong J, Dixon JM. Neoadjuvant Therapy in Early Breast Cancer: Treatment Considerations and Common Debates in Practice. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. octubre de 2017;29(10):642–52.
89. Dai X, Li T, Bai Z, Yang Y, Liu X, Zhan J, et al. Breast cancer intrinsic subtype classification, clinical use and future trends. *Am J Cancer Res*. el 15 de septiembre de 2015;5(10):2929–43.
90. Bou Zerdan M, Ibrahim M, El Nakib C, Hajjar R, Assi HI. Genomic Assays in Node Positive Breast Cancer Patients: A Review. *Front Oncol*. el 16 de febrero de 2021;10:609100.
91. Cognetti F, Biganzoli L, De Placido S, del Mastro L, Masetti R, Naso G, et al. Multigene tests for breast cancer: the physician’s perspective. *Oncotarget*. el 27 de abril de 2021;12(9):936–47.

92. Cardoso F, van 't Veer L, Poncet C, Lopes Cardozo J, Delaloge S, Pierga JY, et al. MINDACT: Long-term results of the large prospective trial testing the 70-gene signature MammaPrint as guidance for adjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *JCO*. el 20 de mayo de 2020;38(15_suppl):506–506.
93. Terceiro LEL, Edechi CA, Ikeogu NM, Nickel BE, Hombach-Klonisch S, Sharif T, et al. The Breast Tumor Microenvironment: A Key Player in Metastatic Spread. *Cancers (Basel)*. el 25 de septiembre de 2021;13(19):4798.
94. Stanton SE, Adams S, Disis ML. Variation in the Incidence and Magnitude of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Breast Cancer Subtypes: A Systematic Review. *JAMA Oncol*. el 1 de octubre de 2016;2(10):1354–60.
95. Althobiti M, Aleskandarany MA, Joseph C, Toss M, Mongan N, Diez-Rodriguez M, et al. Heterogeneity of tumour-infiltrating lymphocytes in breast cancer and its prognostic significance. *Histopathology*. diciembre de 2018;73(6):887–96.
96. Kos Z, Roblin E, Kim RS, Michiels S, Gallas BD, Chen W, et al. Pitfalls in assessing stromal tumor infiltrating lymphocytes (sTILs) in breast cancer. *npj Breast Cancer*. el 12 de mayo de 2020;6(1):1–16.
97. Miyoshi Y, Shien T, Ogiya A, Ishida N, Yamazaki K, Horii R, et al. Associations in tumor infiltrating lymphocytes between clinicopathological factors and clinical outcomes in estrogen receptor-positive/human epidermal growth factor receptor type 2 negative breast cancer. *Oncol Lett*. febrero de 2019;17(2):2177–86.
98. Locy H, Verhulst S, Cools W, Waelput W, Brock S, Cras L, et al. Assessing Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Breast Cancer: A Proposal for Combining Immunohistochemistry and Gene Expression Analysis to Refine Scoring. *Frontiers in Immunology* [Internet]. 2022 [citado el 25 de mayo de 2022];13. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2022.794175>
99. Ruffell B, Au A, Rugo HS, Esserman LJ, Hwang ES, Coussens LM. Leukocyte composition of human breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. el 21 de febrero de 2012;109(8):2796–801.

100. Mahmoud SMA, Paish EC, Powe DG, Macmillan RD, Grainge MJ, Lee AHS, et al. Tumor-infiltrating CD8+ lymphocytes predict clinical outcome in breast cancer. *J Clin Oncol.* el 20 de mayo de 2011;29(15):1949–55.
101. Liu S, Lachapelle J, Leung S, Gao D, Foulkes WD, Nielsen TO. CD8+ lymphocyte infiltration is an independent favorable prognostic indicator in basal-like breast cancer. *Breast Cancer Research.* el 15 de marzo de 2012;14(2):R48.
102. Harris RJ, Cheung A, Ng JCF, Laddach R, Chenoweth AM, Crescioli S, et al. Tumor-Infiltrating B Lymphocyte Profiling Identifies IgG-Biased, Clonally Expanded Prognostic Phenotypes in Triple-Negative Breast Cancer. *Cancer Res.* el 15 de agosto de 2021;81(16):4290–304.
103. Garaud S, Buisseret L, Solinas C, Gu-Trantien C, de Wind A, Van den Eynden G, et al. Tumor-infiltrating B cells signal functional humoral immune responses in breast cancer. *JCI Insight.* 4(18):e129641.
104. Mahmoud SMA, Lee AHS, Paish EC, Macmillan RD, Ellis IO, Green AR. The prognostic significance of B lymphocytes in invasive carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res Treat.* abril de 2012;132(2):545–53.
105. Gu-Trantien C, Loi S, Garaud S, Equeter C, Libin M, Wind A de, et al. CD4⁺ follicular helper T cell infiltration predicts breast cancer survival. *J Clin Invest.* el 1 de julio de 2013;123(7):2873–92.
106. Aaltomaa S, Lipponen P, Eskelinen M, Kosma VM, Marin S, Alhava E, et al. Lymphocyte infiltrates as a prognostic variable in female breast cancer. *Eur J Cancer.* 1992;28A(4–5):859–64.
107. Denkert C, von Minckwitz G, Darb-Esfahani S, Lederer B, Heppner BI, Weber KE, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy. *Lancet Oncol.* enero de 2018;19(1):40–50.
108. Solinas C, Carbognin L, De Silva P, Criscitiello C, Lambertini M. Tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer according to tumor subtype: Current state of the art. *Breast.* octubre de 2017;35:142–50.

109. Okcu O, Öztürk SD, Öztürk Ç, Şen B, Yasin Aİ, Bedir R. Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs)/volume and prognosis: The value of TILs for survival in HER2 and TN breast cancer patients treated with chemotherapy. *Annals of Diagnostic Pathology*. el 1 de junio de 2022;58:151930.
110. Adams S, Gray RJ, Demaria S, Goldstein L, Perez EA, Shulman LN, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancers from two phase III randomized adjuvant breast cancer trials: ECOG 2197 and ECOG 1199. *J Clin Oncol*. el 20 de septiembre de 2014;32(27):2959–66.
111. He L, Wang Y, Wu Q, Song Y, Ma X, Zhang B, et al. Association between levels of tumor-infiltrating lymphocytes in different subtypes of primary breast tumors and prognostic outcomes: a meta-analysis. *BMC Women's Health*. el 5 de septiembre de 2020;20(1):194.
112. Denkert C, Wienert S, Poterie A, Loibl S, Budczies J, Badve S, et al. Standardized evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer: results of the ring studies of the international immuno-oncology biomarker working group. *Mod Pathol*. octubre de 2016;29(10):1155–64.
113. Dunbier AK, Ghazoui Z, Anderson H, Salter J, Nerurkar A, Osin P, et al. Molecular profiling of aromatase inhibitor-treated postmenopausal breast tumors identifies immune-related correlates of resistance. *Clin Cancer Res*. el 15 de mayo de 2013;19(10):2775–86.
114. Oner G, Altintas S, Canturk Z, Tjalma W, Van Berckelaer C, Broeckx G, et al. The immunologic aspects in hormone receptor positive breast cancer. *Cancer Treatment and Research Communications*. el 1 de enero de 2020;25:100207.
115. Millán SV. Cáncer de Mama Hereditario: Identificación y Elección de Pacientes para Estudio Molecular de los Genes BRCA. 2008;11.
116. Miklikova S, Trnkova L, Plava J, Bohac M, Kuniakova M, Cihova M. The Role of BRCA1/2-Mutated Tumor Microenvironment in Breast Cancer. *Cancers (Basel)*. el 2 de febrero de 2021;13(3):575.
117. Claus EB, Risch N, Thompson WD. Genetic analysis of breast cancer in the cancer and steroid hormone study. *Am J Hum Genet*. febrero de 1991;48(2):232–42.

118. Peto J, Easton DF, Matthews FE, Ford D, Swerdlow AJ. Cancer mortality in relatives of women with breast cancer: the OPCS Study. Office of Population Censuses and Surveys. *Int J Cancer*. el 26 de enero de 1996;65(3):275–83.
119. Aloraifi F, Boland MR, Green AJ, Geraghty JG. Gene analysis techniques and susceptibility gene discovery in non-BRCA1/BRCA2 familial breast cancer. *Surg Oncol*. junio de 2015;24(2):100–9.
120. Hedenfalk I, Ringner M, Ben-Dor A, Yakhini Z, Chen Y, Chebil G, et al. Molecular classification of familial non-BRCA1/BRCA2 breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. el 4 de marzo de 2003;100(5):2532–7.
121. Daly MB, Pal T, Berry MP, Buys SS, Dickson P, Domchek SM, et al. Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian, and Pancreatic, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. el 6 de enero de 2021;19(1):77–102.
122. Michailidou K, Lindström S, Dennis J, Beesley J, Hui S, Kar S, et al. Association analysis identifies 65 new breast cancer risk loci. *Nature*. el 2 de noviembre de 2017;551(7678):92–4.
123. Hall JM, Lee MK, Newman B, Morrow JE, Anderson LA, Huey B, et al. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science*. el 21 de diciembre de 1990;250(4988):1684–9.
124. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science*. el 7 de octubre de 1994;266(5182):66–71.
125. Scully R, Livingston DM. In search of the tumour-suppressor functions of BRCA1 and BRCA2. *Nature*. el 23 de noviembre de 2000;408(6811):429–32.
126. Nathanson KL, Wooster R, Weber BL, Nathanson KN. Breast cancer genetics: what we know and what we need. *Nat Med*. mayo de 2001;7(5):552–6.
127. Easton DF, Ford D, Bishop DT. Breast and ovarian cancer incidence in BRCA1-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet*. enero de 1995;56(1):265–71.

128. Wooster R, Bignell G, Lancaster J, Swift S, Seal S, Mangion J, et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature*. el 21 de diciembre de 1995;378(6559):789–92.
129. Bork P, Blomberg N, Nilges M. Internal repeats in the BRCA2 protein sequence. *Nat Genet*. mayo de 1996;13(1):22–3.
130. Bignell G, Micklem G, Stratton MR, Ashworth A, Wooster R. The BRC repeats are conserved in mammalian BRCA2 proteins. *Hum Mol Genet*. enero de 1997;6(1):53–8.
131. Wong AK, Pero R, Ormonde PA, Tavtigian SV, Bartel PL. RAD51 interacts with the evolutionarily conserved BRC motifs in the human breast cancer susceptibility gene brca2. *J Biol Chem*. el 19 de diciembre de 1997;272(51):31941–4.
132. Gayther SA, Mangion J, Russell P, Seal S, Barfoot R, Ponder BAJ, et al. Variation of risks of breast and ovarian cancer associated with different germline mutations of the BRCA2 gene. *Nat Genet*. enero de 1997;15(1):103–5.
133. Yu JH, Lee JW, Son BH, Kim SW, Park SK, Lee MH, et al. Characteristics of BRCA1/2 Mutation-Positive Breast Cancers in Korea: A Comparison Study Based on Multicenter Data and the Korean Breast Cancer Registry. *J Breast Cancer*. junio de 2014;17(2):129–35.
134. Metcalfe KA, Esplen MJ, Goel V, Narod SA. Psychosocial functioning in women who have undergone bilateral prophylactic mastectomy. *Psycho-Oncology*. 2004;13(1):14–25.
135. Chappuis PO, Nethercot V, Foulkes WD. Clinico-pathological characteristics of BRCA1- and BRCA2-related breast cancer. *Semin Surg Oncol*. junio de 2000;18(4):287–95.
136. Atchley DP, Albarracin CT, Lopez A, Valero V, Amos CI, Gonzalez-Angulo AM, et al. Clinical and pathologic characteristics of patients with BRCA-positive and BRCA-negative breast cancer. *J Clin Oncol*. el 10 de septiembre de 2008;26(26):4282–8.
137. Mavaddat N, Barrowdale D, Andrulis IL, Domchek SM, Eccles D, Nevanlinna H, et al. Pathology of breast and ovarian cancers among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from the Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2 (CIMBA). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. enero de 2012;21(1):134–47.

138. Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer. *N Engl J Med.* el 11 de noviembre de 2010;363(20):1938–48.
139. Sharma P, Klemp JR, Kimler BF, Mahnken JD, Geier LJ, Khan QJ, et al. Germline BRCA mutation evaluation in a prospective triple-negative breast cancer registry: implications for hereditary breast and/or ovarian cancer syndrome testing. *Breast Cancer Res Treat.* junio de 2014;145(3):707–14.
140. Wang C, Bai F, Zhang L han, Scott A, Li E, Pei XH. Estrogen promotes estrogen receptor negative BRCA1-deficient tumor initiation and progression. *Breast Cancer Res.* 2018;20:74.
141. Hereditary breast cancer: pathobiology, prognosis, and BRCA1 and BRCA2 gene linkage - PubMed [Internet]. [citado el 26 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8616762/>
142. Pathology of familial breast cancer: differences between breast cancers in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations and sporadic cases. *Breast Cancer Linkage Consortium - PubMed* [Internet]. [citado el 26 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9167459/>
143. Honrado E, Benítez J, Palacios J. The molecular pathology of hereditary breast cancer: genetic testing and therapeutic implications. *Mod Pathol.* octubre de 2005;18(10):1305–20.
144. Lynch BJ, Holden JA, Buys SS, Neuhausen SL, Gaffney DK. Pathobiologic characteristics of hereditary breast cancer. *Hum Pathol.* octubre de 1998;29(10):1140–4.
145. Eerola H, Heikkilä P, Tamminen A, Aittomäki K, Blomqvist C, Nevanlinna H. Histopathological features of breast tumours in BRCA1, BRCA2 and mutation-negative breast cancer families. *Breast Cancer Res.* 2005;7(1):R93–100.
146. Lakhani SR, Van De Vijver MJ, Jacquemier J, Anderson TJ, Osin PP, McGuffog L, et al. The pathology of familial breast cancer: predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and p53 in patients with mutations in BRCA1 and BRCA2. *J Clin Oncol.* el 1 de mayo de 2002;20(9):2310–8.
147. Palacios J, Honrado E, Osorio A, Cazorla A, Sarrió D, Barroso A, et al. Immunohistochemical characteristics defined by tissue microarray of hereditary breast cancer not attributable to

- BRCA1 or BRCA2 mutations: differences from breast carcinomas arising in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Clin Cancer Res.* el 1 de septiembre de 2003;9(10 Pt 1):3606–14.
148. Lang GT, Shi JX, Hu X, Zhang CH, Shan L, Song CG, et al. The spectrum of BRCA mutations and characteristics of BRCA-associated breast cancers in China: Screening of 2,991 patients and 1,043 controls by next-generation sequencing. *Int J Cancer.* el 1 de julio de 2017;141(1):129–42.
149. Armes JE, Egan AJ, Southey MC, Dite GS, McCredie MR, Giles GG, et al. The histologic phenotypes of breast carcinoma occurring before age 40 years in women with and without BRCA1 or BRCA2 germline mutations: a population-based study. *Cancer.* el 1 de diciembre de 1998;83(11):2335–45.
150. Jóhannsson OT, Idvall I, Anderson C, Borg A, Barkardóttir RB, Egilsson V, et al. Tumour biological features of BRCA1-induced breast and ovarian cancer. *Eur J Cancer.* marzo de 1997;33(3):362–71.
151. Grushko TA, Blackwood MA, Schumm PL, Hagos FG, Adeyanju MO, Feldman MD, et al. Molecular-cytogenetic analysis of HER-2/neu gene in BRCA1-associated breast cancers. *Cancer Res.* el 1 de marzo de 2002;62(5):1481–8.
152. Hernández JEL, Llacuachqui M, Palacio GV, Figueroa JD, Madrid J, Lema M, et al. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in unselected breast cancer patients from medellín, Colombia. *Hered Cancer Clin Pract.* 2014;12(1):11.
153. Lewis KE, Lu KH, Klimczak AM, Mok SC. Recommendations and Choices for BRCA Mutation Carriers at Risk for Ovarian Cancer: A Complicated Decision. *Cancers (Basel).* el 21 de febrero de 2018;10(2):57.
154. De Talhouet S, Peron J, Vuilleumier A, Friedlaender A, Viassolo V, Ayme A, et al. Clinical outcome of breast cancer in carriers of BRCA1 and BRCA2 mutations according to molecular subtypes. *Sci Rep.* diciembre de 2020;10(1):7073.
155. Futreal PA, Liu Q, Shattuck-Eidens D, Cochran C, Harshman K, Tavtigian S, et al. BRCA1 mutations in primary breast and ovarian carcinomas. *Science.* el 7 de octubre de 1994;266(5182):120–2.

156. Struewing JP, Hartge P, Wacholder S, Baker SM, Berlin M, McAdams M, et al. The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews. *N Engl J Med.* el 15 de mayo de 1997;336(20):1401–8.
157. Phelan CM, Kwan E, Jack E, Li S, Morgan C, Aubé J, et al. A low frequency of non-founder BRCA1 mutations in Ashkenazi Jewish breast–ovarian cancer families. *Human Mutation.* 2002;20(5):352–7.
158. Samstein RM, Krishna C, Ma X, Pei X, Lee KW, Makarov V, et al. Mutations in BRCA1 and BRCA2 differentially affect the tumor microenvironment and response to checkpoint blockade immunotherapy. *Nat Cancer.* diciembre de 2021;1(12):1188–203.
159. Copson ER, Maishman TC, Tapper WJ, Cutress RI, Greville-Heygate S, Altman DG, et al. Germline BRCA mutation and outcome in young-onset breast cancer (POSH): a prospective cohort study. *Lancet Oncol.* febrero de 2018;19(2):169–80.
160. Xie Y, Gou Q, Wang Q, Zhong X, Zheng H. The role of BRCA status on prognosis in patients with triple-negative breast cancer. *Oncotarget.* el 20 de octubre de 2017;8(50):87151–62.
161. Bucio D, Ormond KE, Hernandez D, Bustamante CD, Lopez Pineda A. A genetic counseling needs assessment of Mexico. *Mol Genet Genomic Med.* el 1 de abril de 2019;7(5):e668.
162. Couch FJ, Nathanson KL, Offit K. Two decades after BRCA: setting paradigms in personalized cancer care and prevention. *Science.* el 28 de marzo de 2014;343(6178):1466–70.
163. Sun J, Meng H, Yao L, Lv M, Bai J, Zhang J, et al. Germline Mutations in Cancer Susceptibility Genes in a Large Series of Unselected Breast Cancer Patients. *Clin Cancer Res.* el 15 de octubre de 2017;23(20):6113–9.
164. Greenup R, Buchanan A, Lorzio W, Rhoads K, Chan S, Leedom T, et al. Prevalence of BRCA Mutations Among Women with Triple-Negative Breast Cancer (TNBC) in a Genetic Counseling Cohort. *Ann Surg Oncol.* el 1 de octubre de 2013;20(10):3254–8.
165. Breast Disease Research Center (BDRC), Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, Omranipour R, Department of Surgical Oncology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, Jalili R, Breast Disease Research Center (BDRC), Tehran University

- of Medical Sciences, Tehran, Iran, Yazdankhahkenary A, et al. Evaluation of Pathologic Complete Response (pCR) to Neoadjuvant Chemotherapy in Iranian Breast Cancer Patients with Estrogen Receptor Positive and HER2 Negative and impact of predicting variables on pCR. *Eur J Breast Health*. el 24 de junio de 2020;16(3):213–8.
166. I-SPY2 Trial Consortium. Association of Event-Free and Distant Recurrence-Free Survival With Individual-Level Pathologic Complete Response in Neoadjuvant Treatment of Stages 2 and 3 Breast Cancer: Three-Year Follow-up Analysis for the I-SPY2 Adaptively Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncology*. el 1 de septiembre de 2020;6(9):1355–62.
167. Buscan descifrar la genética del cáncer de mama en la mujer mexicana | UNAM Global [Internet]. 2018 [citado el 4 de octubre de 2021]. Disponible en: <https://unamglobal.unam.mx/buscan-descifrar-la-genetica-del-cancer-de-mama-en-la-mujer-mexicana/>
168. Aguilar-Barojas S. Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. :7.
169. Villarreal-Garza C. Validación del HISPANEL y estudios de susceptibilidad genética cientes Mexicanas con Alto Riesgo de Síndrome de Cáncer de Mama y Ovario Hereditario.
170. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol*. febrero de 2015;26(2):259–71.
171. Noh JM, Choi DH, Baek H, Nam SJ, Lee JE, Kim JW, et al. Associations between BRCA Mutations in High-Risk Breast Cancer Patients and Familial Cancers Other than Breast or Ovary. *J Breast Cancer*. septiembre de 2012;15(3):283–7.
172. Atcı MM, Geredeli Ç, Ay S, Sakin A, Ertürk B, Seçmeler Ş, et al. Clinical and Pathological Characteristics of Patients with High-Risk Breast Cancer Based on BRCA Mutation Profiles: A Retrospective Study. *Eur J Breast Health*. el 31 de marzo de 2021;17(2):123–7.
173. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 Mutations Among High-Risk Saudi Patients With Breast Cancer | JCO Global Oncology [Internet]. [citado el 14 de junio de 2022]. Disponible en: <https://ascopubs.org/doi/full/10.1200/JGO.18.00066>

174. Boo L de, Cimino-Mathews A, Lubeck Y, Daletzakis A, Opdam M, Sanders J, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes (TILs) and BRCA-like status in stage III breast cancer patients randomised to adjuvant intensified platinum-based chemotherapy versus conventional chemotherapy. *European Journal of Cancer*. el 1 de marzo de 2020;127:240–50.
175. Telli ML, Chu C, Badve SS, Vinayak S, Silver DP, Isakoff SJ, et al. Association of Tumor-Infiltrating Lymphocytes with Homologous Recombination Deficiency and BRCA1/2 Status in Patients with Early Triple-Negative Breast Cancer: A Pooled Analysis. *Clin Cancer Res*. el 1 de junio de 2020;26(11):2704–10.
176. Kolberg-Liedtke C, Gluz O, Heinisch F, Feuerhake F, Kreipe H, Clemens M, et al. Association of TILs with clinical parameters, Recurrence Score® results, and prognosis in patients with early HER2-negative breast cancer (BC)—a translational analysis of the prospective WSG PlanB trial. *Breast Cancer Res*. diciembre de 2020;22(1):47.
177. Pujani M, Jain H, Chauhan V, Agarwal C, Singh K, Singh M. Evaluation of Tumor infiltrating lymphocytes in breast carcinoma and their correlation with molecular subtypes, tumor grade and stage. *Breast Dis*. 2020;39(2):61–9.
178. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes (TILS) and their association with clinicopathological features in breast cancer: A retrospective study involving 53 cases [Internet]. [citado el 15 de junio de 2022]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-senologia-patologia-mamaria--131-pdf-S0214158221000694>
179. Takada K, Kashiwagi S, Asano Y, Goto W, Ishihara S, Morisaki T, et al. Clinical verification of body mass index and tumor immune response in patients with breast cancer receiving preoperative chemotherapy. *BMC Cancer*. el 20 de octubre de 2021;21:1129.
180. Sant’Ana RO, Silva-Fernandes IJ de L, Luciano MC dos S, Silva PG de B, Lima MVA. Pathological complete response (pCR) after neoadjuvant chemotherapy (NAC) for advanced breast cancer patients with high risk for Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome (HBOC). *JCO*. el 20 de mayo de 2020;38(15_suppl):e13549–e13549.
181. Hwang HW, Jung H, Hyeon J, Park YH, Ahn JS, Im YH, et al. A nomogram to predict pathologic complete response (pCR) and the value of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) for prediction of response to neoadjuvant chemotherapy (NAC) in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*. enero de 2019;173(2):255–66.

182. Hong J, Rui W, Fei X, Chen X, Shen K. Association of tumor-infiltrating lymphocytes before and after neoadjuvant chemotherapy with pathological complete response and prognosis in patients with breast cancer. *Cancer Med.* el 25 de septiembre de 2021;10(22):7921–33.
183. Wunderle M, Gass P, Häberle L, Flesch VM, Rauh C, Bani MR, et al. BRCA mutations and their influence on pathological complete response and prognosis in a clinical cohort of neoadjuvantly treated breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* el 1 de agosto de 2018;171(1):85–94.
184. Denkert C, Loibl S, Noske A, Roller M, Müller BM, Komor M, et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol.* el 1 de enero de 2010;28(1):105–13.
185. Dieci MV, Mathieu MC, Guarneri V, Conte P, Delaloge S, Andre F, et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in two phase III randomized adjuvant breast cancer trials. *Ann Oncol.* agosto de 2015;26(8):1698–704.
186. Fallahpour S, Navaneelan T, De P, Borgo A. Breast cancer survival by molecular subtype: a population-based analysis of cancer registry data. *CMAJ Open.* el 25 de septiembre de 2017;5(3):E734–9.
187. van Dooijeweert C, van Diest PJ, Ellis IO. Grading of invasive breast carcinoma: the way forward. *Virchows Arch.* el 1 de enero de 2022;480(1):33–43.
188. Yadav S, Ladkany R, Yadav D, Alhalabi O, Khaddam S, Isaac D, et al. Impact of BRCA Mutation Status on Survival of Women With Triple-negative Breast Cancer. *Clin Breast Cancer.* octubre de 2018;18(5):e1229–35.
189. Templeton AJ, Gonzalez LD, Vera-Badillo FE, Tibau A, Goldstein R, Šeruga B, et al. Interaction between Hormonal Receptor Status, Age and Survival in Patients with BRCA1/2 Germline Mutations: A Systematic Review and Meta-Regression. *PLoS One.* 2016;11(5):e0154789.
190. Female Breast Cancer Subtypes - Cancer Stat Facts [Internet]. SEER. [citado el 15 de junio de 2022]. Disponible en: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/breast-subtypes.html>

191. Patient pathway for breast cancer: turning points and future aspirations | Future Oncology [Internet]. [citado el 13 de junio de 2022]. Disponible en: <https://www.futuremedicine.com/doi/abs/10.2217/fon.15.21>