UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS
DE GRAN CANARIA

BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA CON ^{99m}Tc-NANOCOLOIDES EN EL CÁNCER DE MAMA: VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA, IMPLANTACIÓN Y ANÁLISIS DEL IMPACTO SOBRE EL PRONÓSTICO DE LA ENFERMEDAD

Fayna María Armas Serrano

Tesis Doctoral

Universidad de Las Palmas de Gran Canaria
Departamento de Ciencias Médicas y Quirúrgicas
Las Palmas de Gran Canaria

Abril de 2014

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS
DE GRAN CANARIA

PROGRAMA DE DOCTORADO

Avances en Medicina Interna

Título

Biopsia selectiva del ganglio centinela con ^{99m}Tc-nanocoloides en el cáncer de mama: validación de la técnica, implantación y análisis del impacto sobre el pronóstico de la enfermedad

Memoria para optar al grado de Doctor por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria presenta la Licenciada

Fayna María Armas Serrano

Directores

Dr. Luis Alberto Henríquez Hernández
Profesor Asociado del Departamento de Ciencias Clínicas de la ULPGC

Dr. Víctor Manuel Vega Benítez
Servicio de Cirugía del Complejo Hospitalario Universitario Insular-Materno Infantil

LAS PALMAS DE GRAN CANARIA – ABRIL 2014

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS
DE GRAN CANARIA

LUIS ALBERTO HENRÍQUEZ HERNÁNDEZ, PROFESOR ASOCIADO DE TOXICOLOGÍA DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS CLÍNICAS DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

CERTIFICA:

Que el trabajo de investigación titulado "**BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA CON ^{99m}Tc-NANOCOLOIDES EN EL CÁNCER DE MAMA: VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA, IMPLANTACIÓN Y ANÁLISIS DEL IMPACTO SOBRE EL PRONÓSTICO DE LA ENFERMEDAD**", ha sido realizado por **Dña. FAYNA MARÍA ARMAS SERRANO**, en el Departamento de Ciencias Clínicas de la Universidad de Las Palmas, bajo su dirección y asesoramiento técnico y científico, y que una vez revisada la presente Memoria, la encuentra apta para su defensa ante el tribunal.

Y para que así conste y surta a los efectos oportunos, extiende el presente certificado en Las Palmas de Gran Canaria a veintiuno de abril de dos mil catorce.

Fdo: Luis Alberto Henríquez Hernández

Servicio
Canario de la Salud

VÍCTOR MANUEL VEGA BENÍTEZ, MÉDICO ADJUNTO DEL SERVICIO DE CIRUGÍA GENERAL DEL COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO INSULAR-MATERNO INFANTIL

CERTIFICA:

Que el trabajo de investigación titulado "**BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA CON ^{99m}TECNECIO-NANOCOLOIDES EN EL CÁNCER DE MAMA: VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA, IMPLANTACIÓN Y ANÁLISIS DEL IMPACTO SOBRE EL PRONÓSTICO DE LA ENFERMEDAD**", ha sido realizado por **Dña. FAYNA MARÍA ARMAS SERRANO**, en el Servicio de Cirugía General del Complejo Hospitalario Universitario Insular-Materno Infantil, bajo su dirección y asesoramiento técnico y científico, y que una vez revisada la presente Memoria, la encuentra apta para su defensa ante el tribunal.

Y para que así conste y surta a los efectos oportunos, extiende el presente certificado en Las Palmas de Gran Canaria a veintiuno de abril de dos mil catorce.

Fdo: Víctor Manuel Vega Benítez

A todas las mujeres que se enfrentan al cáncer de mama,
especialmente a las que contribuyeron
a la realización de este trabajo

A los tres bombonazos que endulzan mi vida:
Nicolás, Joaquín y Estefanía

“Cada uno se sabe su propio nombre”

Joaquín Revuelta Armas (2 años)
Pamplona, Julio de 2005

Agradecimientos

Dicen que esto es lo que va a leer todo el mundo.
Mejor.
Así todo el mundo sabrá que yo sola nunca habría terminado esta tesis, y que si por fin lo he hecho, ha sido gracias al apoyo incondicional de gente excepcional.

Como el Dr. Víctor Vega Benítez, de quien fue la idea original de este trabajo. Quiero expresar mi agradecimiento por su amable acogida desde que llegué al hospital recién salida de la facultad, por el tiempo dedicado y el apoyo recibido a lo largo de todos estos años: su firme respaldo a cada proyecto emprendido y a cada idea desarrollada. Gracias también por haberme dado la oportunidad de presenciar en primera fila cómo ha cambiado el tratamiento de nuestras mujeres con cáncer de mama en estos quince años.

Al Dr. Luis Alberto Henríquez Hernández, pieza clave en la culminación de este trabajo, sin el cual hubiera sido imposible llegar al final del camino por su enorme implicación en este proyecto. Su valiosa colaboración con el tratamiento de los datos, su inquebrantable fe en mí, sus palabras de aliento en los momentos difíciles, su infinita paciencia ante las dificultades, su ejemplar rigor científico, su pasión por la investigación, e incluso su música y sus canciones, forman parte de la ayuda inestimable, sin la cual nunca habría terminado esta tesis: Oh yeahhh!!.

A la Dra. María Jesús Hernández Briz, quien inició la validación de esta técnica, siendo pionera en Canarias, por haber facilitado el desarrollo e implantación de la misma, por la confianza depositada en mí, por su apoyo constante y por su infinita paciencia conmigo en cada momento.

Al Dr. Jose María Rodríguez Fernández, que imprimió en mí la pasión por la investigación, y el deseo de mejorar constantemente la atención a los pacientes. A la Dra. Carmen Perera Romero y a la Dra. Joana Herrera Henríquez por su colaboración en la recogida de datos y en la ardua tarea de revisar historias clínicas.

Al Comité de Patología Mamaria del Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil, por facilitar el desarrollo de este trabajo, en concreto a las Dras. Jiménez, Gutiérrez, Pavcovich y Asenjo, por su buen hacer profesional y especialmente a la Dra. LLoret por su gran sentido común.

A todo el personal del Servicio de Medicina Nuclear del Complejo: a los médicos, enfermeros, técnicos, auxiliares y administrativos, por su comprensión a la hora de desarrollar las nuevas técnicas y por su excelencia en la atención a las pacientes incluidas en este estudio.

A mi compañera la Dra. Arancha Santana Borbones, que con su mano amable me ha sostenido en los peores momentos.

Al Dr. Patricio Navarro Medina, del Servicio de Urología, por llenar de ilusión mi vida, profesional, por su empuje, su tenacidad y su dedicación a los nuevos proyectos.

A todos aquellos que no entienden la investigación y a los que piensan que es solo una excusa para viajar. A quienes me han puesto trabas, dificultades, me han cerrado puertas o han mostrado incomprensión en algún aspecto. A los que no me han entendido y me han criticado, en lo profesional y en lo personal: de los momentos difíciles y del rechazo también se aprende y se sacan fuerzas para seguir adelante, y para terminar proyectos como este.

A todos aquellos, que por el contrario, me han comprendido, animado y ayudado siempre:

A mi padre, por su inestimable ejemplo de honestidad e integridad, y por no dejar nunca de preguntar "*¿cuándo vas a terminar la tesis?"*. Ya la terminé: y mi mayor orgullo es que te sientas orgulloso de mí.

A mi madre, por llenarlo todo de sentido del humor, de alegría, de vitalidad y por su ejemplo de cómo quitar hierro a las cosas. Gracias por todas esas horas que me has sustituido como madre para poder terminar este trabajo: solo tú eres capaz de hacerlo tan bien, como para que ellos no me echen de menos.

A mis tías, especialmente a Pepa, por la cantidad de horas que le he podido dedicar a este trabajo a costa de tantos potajes cocinados para nosotros.

A mis hermanos, por estar siempre ahí, por ser unos "tíos estupendos", y por ser conscientes de pertenecer a una familia maravillosa.

A Daniel, padre de mis tres hijos, por su tenaz apoyo, su comprensión y sus palabras de aliento en los peores momentos.

A Nicolás, Joaquín y Estefanía, a quienes les di la vida, por habérmela devuelto llena de aventura, de color, de ilusión y de alegría.

A mi amiga María, por su extraordinaria comprensión a cada paso: gracias por no soltarme nunca de la mano.

A quien llegó a mi vida cuando menos lo esperaba y más lo necesitaba.

A mi playita de las Canteras, por acariciarme el alma en las peores épocas, por sostenerme, consolarme, por dejarse recorrer, por transmitirme tantas ganas de vivir.

En definitiva, que gracias a Dios…, que el tamaño de aquél trombo en el pulmón no me impidió terminar de escribir esto, para poder darles las gracias a todos ustedes.

ÍNDICE

INDICE

I. INTRODUCCIÓN 1
1. CÁNCER DE MAMA 1
1.1. CONCEPTO DE CÁNCER DE MAMA 1
1.2. TIPOS Y CLASIFICACIÓN 1
1.3. GENÉTICA 10
1.4. EPIDEMILOLOGÍA 12
1.4.1. Incidencia 12
1.4.2. Supervivencia 14
1.4.3. Mortalidad 15
1.5. FACTORES DE RIESGO 16
1.6. DIAGNÓSTICO DEL CANCER DE MAMA 19
1.6.1. Masas y nódulos palpables 19
1.6.2. La mamografía anormal 21
1.7. DIAGNÓSTICO DE EXTENSIÓN 23
1.8. FACTORES PRONÓSTICOS 24
1.9. MANEJO TERAPÉUTICO 26
1.9.1. Cirugía 27
1.9.2. Radioterapia 29
1.9.3. Quimioterapia 30
1.9.4. Hormonoterapia 32
1.9.5. Inmunoterapia 33
1.9.6. Quimioterapia neoadyuvante 33
2. BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA 35
2.1 ANATOMÍA DEL SISTEMA LINFÁTICO 35
2.1.1. Generalidades 35
2.1.2. Sistema linfático de la mama 43
2.2. FISIOLOGÍA DEL SISTEMA LINFÁTICO 44
2.2.1. Formación de la linfa 44
2.2.2. Drenaje de la linfa 46
2.2.3. Presión, resistencia y flujo 47
2.2.4. Composición de la linfa 48
2.2.5. Limpieza de partículas extrañas 50
2.3. INTRODUCCIÓN AL CONCEPTO DE GANGLIO CENTINELA 51
2.4. DESARROLLO HISTÓRICO DE LA TÉCNICA 54
2.5. ETAPAS EN LA INVESTIGACIÓN DE LA TÉCNICA DE LA BIOPSIA DEL GANGLIO CENTINELA 66
2.6. VARIABLES ANALIZADAS EN LOS ESTUDIOS SOBRE LA BIOPSIA DEL GANGLIO CENTINELA 68
2.6.1. Número de ganglios centinelas 68
2.6.2. Porcentaje de identificación del ganglio centinela o eficacia técnica 69
2.6.3. Sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la prueba 70
2.6.4. Incidencia de falsos negativos 72
2.6.5 Exactitud de la técnica 73
2.7 METODOLOGÍA DESARROLLADA PARA LA BIOPSIA DEL GANGLIO CENTINELA 73
2.7.1. Marcaje con colorantes 74
2.7.2. Marcaje con isótopos 77

2.7.3. Localización de la inyección 81
2.7.4. Características inherentes al paciente 82
2.8. RADIOPROTECCIÓN 85
II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS 91
III. MATERIAL Y MÉTODOS 95
1. SELECCIÓN DE LA POBLACIÓN 95
1.1. DEFINICIÓN DE LOS SUJETOS DEL ESTUDIO 95
1.2. PROCEDIMIENTO DE SELECCIÓN DE PACIENTES (Criterios de inclusión y de exclusión) 95
2. MATERIAL Y MÉTODOS EMPLEADOS EN EL ESTUDIO 98
2.1. RADIOTRAZADOR 98
2.2. TÉCNICA DE INYECCIÓN 99
2.3. LINFOGAMMAGRAFÍA 100
2.4. CIRUGÍA 102
2.5. ANÁLISIS ANATOMOPATOLÓGICO 104
2.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO 104
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 111
1. FASE DE VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA 111
1.1. OBJETIVO DE LA FASE DE VALIDACIÓN 112
1.2. DISEÑO DEL ESTUDIO DE VALIDACIÓN 113
1.2.1 Sujetos 113
1.2.2. Técnica 113
1.2.3. Análisis estadístico 113
1.3. RESULTADOS 114
1.4. DISCUSIÓN 117
1.5. CONCLUSIONES 121
2. APLICABILIDAD DE LA TÉCNICA EN FASE ASISTENCIAL 122
2.1. OBJETIVO DE LA FASE ASISTENCIAL 122
2.2. DISEÑO DEL ESTUDIO ASISTENCIAL 123
2.2.1. Sujetos 123
2.2.2. Técnica 125
2.2.3. Análisis estadístico 126
2.3. RESULTADOS DE LA FASE ASISTENCIAL 126
2.3.1 Relación del motivo de consulta con otras variables 126
2.3.2 Variables relacionadas con el tumor primario 128
2.3.3 Variables relativas al ganglio centinela 131
2.3.4 Factores pronósticos 151
3. ADAPTACIÓN A LOS CONSENSOS 154
4. RECEPTORES HORMONALES Y FACTORES MOLECULARES 166
4.1. RECEPTORES DE ESTRÓGENO Y PROGESTERONA 166
4.2. EXPRESIÓN DE HER-2 168
4.3. ÍNDICE DE PROLIFERACIÓN CELULAR 169
4.4. OTROS FACTORES 169
5. ANÁLISIS DEL IMPACTO SOBRE EL PRONÓSTICO DE LA ENFERMEDAD 171
V. CONCLUSIONES 195
VI. REFERENCIAS 199

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

1. CÁNCER DE MAMA

1.1. CONCEPTO DE CÁNCER DE MAMA

El cáncer de mama es el tumor más frecuente, excluyendo los tumores de origen cutáneo, en las mujeres occidentales. En el año 2000, se diagnosticaron casi 15000 nuevos casos de cáncer de mama en España, y el número de fallecimientos por esta misma causa alcanzó los 6400 casos (Bray et al. 2002). Entre los varones su incidencia es mucho menor.

Este tipo de cáncer se origina por la proliferación maligna de las células que componen la glándula mamaria. Lo más frecuente es que tenga origen en las células epiteliales que revisten los conductos (carcinoma ductal) o los lobulillos mamarios (carcinoma lobulillar), pero también puede deberse a una proliferación maligna de otras estirpes celulares. Se trata de una enfermedad clonal, originada a partir de una única célula transformada como resultado final de una serie de mutaciones que dan a la célula la capacidad de expresar su potencial maligno en una serie de sucesos que se producen de forma secuencial y aleatoria. Debido a ello, este tipo de cáncer puede existir durante largos períodos de tiempo como enfermedad no invasiva, o como enfermedad invasiva pero no metastásica. Este hecho subraya la urgencia de diagnosticarlo a tiempo y de tratarlo adecuadamente.

1.2. TIPOS Y CLASIFICACIÓN

El cáncer de mama se puede clasificar de muchas formas según los diferentes aspectos considerados: el tipo de célula de la cual deriva el tumor, la capacidad de invasión de dichas células, la apariencia de las mismas al microscopio, la expresión de determinados genes, etc.

- Según el tipo de célula de la cual se originó el tumor el cáncer de mama se suele clasificar básicamente en ***ductal y lobulillar***. Cada glándula mamaria está dividida en unas 15 o 20 secciones llamadas lóbulos, los cuales están subdivididos a su vez en lobulillos, considerados las unidades funcionales para la secreción láctea. Los lóbulos y lobulillos están conectados entre sí por finos canales llamados conductos galactóforos o simplemente ductos, que es por donde fluye dicha secreción (Fig.1). El tipo de cáncer de mama más frecuente es el que se genera a partir de las células de dichos conductos, y se denomina *carcinoma ductal*. Por otro lado, el cáncer que comienza a partir de las células de los lobulillos se denomina *carcinoma lobulillar* y es el que con mayor frecuencia se presenta de forma bilateral.

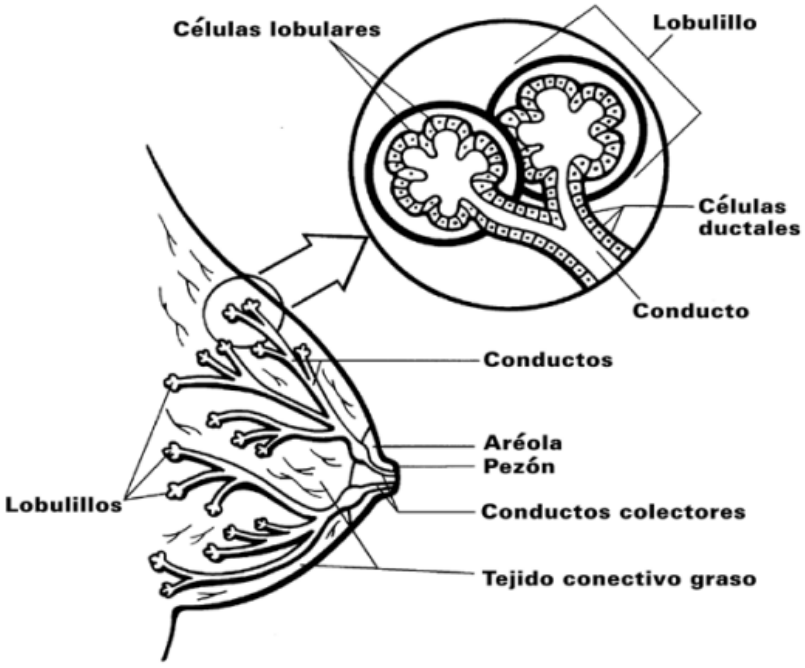

Figura 1. Diagrama representativo de la anatomía mamaria.

- Según la capacidad de invasión de las células tumorales el cáncer de mama puede clasificarse como ***carcinoma in situ o carcinoma invasivo***. De esta forma, cuando se habla de *carcinoma in situ*, se hace referencia a que el cáncer permanece confinado en la estructura histológica en la cual se ha desarrollado, es decir, en los ductos o en los lobulillos, no habiéndose propagado al tejido circundante de la mama ni a otros órganos del cuerpo. Por otro lado, cuando el cáncer se origina en un conducto lácteo o lobulillo, y

además las células atraviesan la membrana basal tisular e invaden el tejido circundante, se habla de *carcinoma invasivo*, y puede extenderse a distancia a través de los canales linfáticos o del torrente sanguíneo.

- El estudio molecular de los tumores de mama ha traído consigo una nueva clasificación basada en la expresión de distintas proteínas y receptores, según el análisis genómico de las mismas: ***luminal A, luminal B, HER2-positivo, y triple negativo / "basal like"*** (Perou et al. 2000; Sorlie et al. 2003; Foekens et al. 2006; Goldhirsch et al. 2011).

Los carcinomas de mama de ***tipo luminal*** son los subtipos con mejor pronóstico y se caracterizan por expresar el gen del receptor estrogénico, así como genes asociados y queratinas de bajo peso molecular de forma semejante a lo que ocurriría en el epitelio luminal normal de los conductos mamarios. Al expresar dichos receptores estrogénicos estos tumores pueden tratarse con inhibidores de los mismos pero tienen una baja respuesta a la quimioterapia.

El carcinoma de mama ***HER2+*** muestra una expresión aumentada de genes asociados a c-erbB-2, y suelen asociarse también a otros marcadores de mal pronóstico, incluyendo alteraciones de otros genes como la topoisomerasa II alfa, GATA4, genes de angiogénesis y de proteolisis. Aunque presentan una mejor respuesta a la quimioterapia, y cerca del 50% responde al tratamiento con trastuzumab (nombre comercial, Herceptin®), el pronóstico es malo.

El subtipo ***triple negativo / basal like*** se caracteriza por presentar sobreexpresión de citoqueratinas propias de la capa basal (CK5/6, CK17) y de genes relacionados con la proliferación celular. Estos tumores suelen tener mutaciones en el gen oncosupresor p53, sobreexpresan el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y se caracterizan por la ausencia de expresión de receptores hormonales y de HER2. Este subtipo se asocia a la mutación BRCA-1 y presenta el comportamiento más agresivo a pesar de su alta sensibilidad a la quimioterapia. En la Tabla 1 se resumen las características de cada uno de los subtipos descritos:

Tabla 1. Definiciones de los subtipos intrínsecos del cáncer de mama (Goldhirsch et al. 2013b)

Subtipo intrínseco	Definición clinicopatológica	Notas
Luminal A	**"Tipo Luminal A"** *todos de*: - RE y RP positivos - HER2 negativo - Ki-67 bajo[a] - Riesgo de recurrencia bajo basado en análisis de expresión multigénica (si disponible)	El punto de corte entre valores altos y bajos del Ki-67 varía entre distintos laboratorios. Un nivel menor del 14% se correlaciona mejor con la definición de Luminal-A, basado en la experiencia de un solo laboratorio. Igualmente el valor añadido de los RP en la distinción entre Luminal A y B deriva del estudio de Prat y col, que usó el punto de corte ≥ 20% como el que mejor corresponde al Luminal-A (Prat et al. 2013)
Luminal B	**"Tipo luminal B (HER2 negativo)"** - RE positivos - HER2 negativo *Y al menos uno de:* - Ki-67 alto - RP negativos o bajos - Riesgo de recurrencia alto basado en análisis de expresión multigénica (si disponible) **"Tipo luminal B (HER2 positivo)"** - RE positivos - HER2 sobre-expresados o amplificados - Cualquier Ki-67 - Cualquier RP	Los "tipo Luminal B" comprenden aquellos casos luminales que han perdido las características descritas arriba como enfermedad "tipo Luminal A" Por tanto, cualquier valor de Ki-67 elevado o disminuido de RP puede usarse para distinguir entre "tipo Luminal A" y "tipo Luminal B (HER2 negativo)"
Sobre - expresión Erb-B2	**"HER2 positivos (no luminal)"** - HER2 sobreexpresado o amplificado - RE y RP negativos	
"Basal-like"	**"Triple negativos (ductal)"** - RE y RP ausentes - HER2 negativo	Existe un solapamiento entre el "triple negativo" y el subtipo intrínseco "basal like". Algunos casos con RE débilmente positivos pueden agruparse con subtipos no luminales en los ensayos de expresión génica. El "triple negativo" también incluye alguna histología especial como los carcinomas adenoides quísticos.

Abreviaturas: RE: receptores estrogénicos, RP: receptores de progesterona.
[a]La mayoría del panel de expertos del Panel de St. Gallen 2013, acordó que el punto de corte de ≥ 20% es indicativo de Ki-67 elevado. RE; receptores de estrógeno, RP: receptores de progesterona.

- En la caracterización y clasificación del cáncer de mama también tiene su importancia el perfil de expresión génico de los tumores. A pesar de que en el momento actual se considera que el análisis de los perfiles de expresión génica mediante las pruebas genómicas, constituye la mejor forma de clasificar los carcinomas de mama, en la mayoría de los hospitales su uso se encuentra limitado ya que son técnicas caras y difíciles de aplicar en material parafinado.

Las pruebas genómicas analizan grupos de genes y su nivel de actividad, que son factores que influyen en el avance de la enfermedad y en la respuesta al tratamiento. Una prueba genómica no es lo mismo que una prueba genética, ya que esta última busca mutaciones en los genes que se heredan o que pasan de una generación a la siguiente.

Existen en estos momentos 2 tests GENÓMICOS en cáncer de mama, el **MammaPrint®** aprobado por la *Federal Drug Administration* (FDA), y el **Oncotype DX®** utilizado por la *Sociedad Americana de Oncología Clínica (*ASCO) y la *Red Nacional Integral del Cáncer* (NCCN), organismos que actualmente incluyen dicho análisis en sus pautas de tratamiento para el cáncer de mama precoz. Ambos han sido validados (Glas et al. 2006), y que ponen de manifiesto la variabilidad de cada cáncer de mama, incluso de aquellos que tienen perfiles inmunohistoquímicos similares (Tabla 2).Ambas pruebas observan la expresión del perfil genético del tumor, y en función de los resultados determinan el riesgo de recurrencia y la conveniencia de administrar QT sistémica.

Tabla 2. Tests genómicos en cáncer de mama

	Mammaprint®	**Oncotype DX®**
Objetivo	Determina el riesgo de recurrencia durante los 10 años posteriores al diagnóstico	Determina si el tratamiento sistémico con QT reduce el riesgo de recurrencia
Nº de genes estudiados	70	21
Requisitos de las muestras	Parafinadas Congeladas	Fijadas en formalina Parafinadas
Candidatas	pT de 10 a 30 mm pN0 o pN1mic Grado II Receptores hormonales (+) HER2 neu (-) Entre 35 y 70 años Ki 67 (11-25%)	Las de bajo riesgo de recurrencia: Estadios I y II N0 (ganglios negativos) Receptores de estrógenos (+) (Probable eficacia en postmenopáusicas, estadios II o III, con ganglios afectos)
Resultados y clasificación de las pacientes	- Bajo riesgo: 10% de riesgo de recurrencia a los 10 años - Alto riesgo: 29% de riesgo de recurrencia a los 10 años	- Puntuación menor de 18: poco riesgo de recurrencia, beneficio de QT limitado frente a riesgos - Entre 18 y 31: riesgo intermedio. - Mayor a 31: alto riesgo de recurrencia. Beneficios de QT superan riesgos de efectos secundarios.

Abreviaturas: QT: quimioterapia.

- Según el aspecto y la apariencia de las células cancerosas bajo el microscopio se habla de células de aspecto ***cribiforme, medular****, etc.,* aunque ésta es una clasificación menos habitual. Aproximadamente el 80% de los tumores de mama son ***carcinomas ductales infiltrantes****,* mientras que el 20% restante está constituido por diversos tipos de tumores (***lobulillar, comedocarcinoma, medular, mucinoso o coloide, papilar****, etc.*). Solo el 1-2% de los casos son bilaterales (Estapé Rodríguez et al. 1995).

a. ***Sarcomas****:* Poco frecuentes en la mama, pero pueden aparecer como fibrosarcomas, liposarcomas, osteosarcomas, angiosarcomas, etc.
b. ***Cystosarcoma phylloides****:* Podría considerarse como el equivalente maligno del fibroadenoma en el que el componente conjuntivo ha adquirido malignidad. También es muy poco frecuente.
c. ***Carcinomas****:* De conductos: Carcinoma ductal. De lobulillos: Carcinoma lobulillar *y* enfermedad de Paget del pezón

- Durante muchos años, el sistema más utilizado para la clasificación del cáncer de mama ha sido el desarrollado por el *American Joint Committee on Cancer (AJCC),* que proporciona herramientas para agrupar a los pacientes según el pronóstico (Tabla 3). Este sistema también se conoce como ***clasificación TNM*** (por sus siglas en inglés) que hacen referencia al tamaño del tumor (T), la afectación de ganglios linfáticos (N) y la presencia de metástasis (M). La combinación de estos tres elementos condiciona el estadio de la enfermedad (Tabla 4), que hasta ahora había sido el principal factor a la hora de decidir el manejo terapéutico y que se consideraba también el principal factor pronóstico (AJCC 2002). Este sistema ha ido evolucionando con el paso de los años. Se modificó profundamente en el año 2002 (Singletary et al. 2002), introduciendo importantes cambios como por ejemplo algunos referidos a las categorías ganglionares, que previamente se consideraba que correspondían al estadio II de la enfermedad y que tras esa revisión pasaron a considerarse como estadio III. Hay que resaltar que como resultado del fenómeno de modificación del estadio, la supervivencia por estadio para series de casos clasificados con el nuevo sistema parecerá superior a aquella en la que se usa el sistema antiguo.

Tabla 3. Descripción del tamaño del tumor (T), la afectación ganglionar (N) y la metástasis a distancia (M) según la *AJCC (UICC 2010)*

Tumor primario (T)[a,]

TX	No se puede evaluar el tumor primario.
T0	No existe prueba de tumor primario.
Tis	Carcinoma *in situ*.
Tis (CDIS)	CDIS.
Tis (CLIS)	CLIS.
T1	El tumor mide ≤20 mm en su mayor dimensión.
T1mi	El tumor mide ≤1 mm en su mayor dimensión.
T1a	El tumor mide >1 mm pero ≤5 mm en su mayor dimensión.
T1b	El tumor mide >5 mm pero ≤10 mm en su mayor dimensión.
T1c	El tumor mide >10 mm pero ≤20 mm en su mayor dimensión.
T2	El tumor mide >20 mm pero ≤50 mm en su mayor dimensión.
T3	El tumor mide >50 mm en su mayor dimensión.
T4	Cualquier tamaño con extensión directa a la pared pectoral o a la piel (ulceración o nódulos cutáneos).[b]
T4a	Extensión a la pared torácica que no solo incluye adherencia o invasión a los músculos pectorales.
T4b	Ulceración o nódulos satélites ipsilaterales o edema cutáneo.
T4c	Ambos, T4a y T4b.
T4d	Carcinoma inflamatorio.

Notas. CDIS = carcinoma ductal in situ; CLIS = carcinoma lobular in situ. (a) La clasificación del tumor primario T es la misma, independientemente de si se fundamenta en el criterio clínico o patológico, o en ambos. El tamaño se debe medir hasta el milímetro más cercano. Si el tamaño del tumor es ligeramente menor o mayor del límite para una clasificación T dada, se recomienda que se redondee hasta el milímetro más cercano al límite. Por ejemplo, un tumor con tamaño 1,1 mm se notifica como 1 mm, o un tumor 2,01 cm se notifica como de 2,0 cm. Las designaciones se deberían hacer con el subíndice "c" o "p" como modificador para indicar si la clasificación T se determinó mediante mediciones clínicas (examen físico o radiológico) o patológico, respectivamente. La determinación patológica toma precedente sobre la clínica respecto al tamaño T.(b). La invasión de la dermis por sí sola no califica como T4.

N, ganglios regionales [a]

pNX	No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales (p.ej., extirpación previa o no se extirpó para un estudio patológico).
pN0	No se identificó metástasis en ganglios linfáticos regionales por medios histológicos.
Nota: los ITC son pequeños grupos de células ≤0.2 mm, o células de un solo tumor o una aglomeración de <200 células en una sección histológica cruzada única. Las ITC se pueden localizar con histología rutinaria o con métodos IHC. Los nódulos que solo contienen ITC se excluyen del recuento de nódulos positivos para el proceso de clasificación N, pero se deben incluir en el total de nódulos evaluados.	
pN0(i–)	Histológicamente, no hay metástasis regional a ganglio regional, IHC negativo.
pN0(i+)	Células malignas en ganglio(s) linfático(s) regional(es) ≤0.2 mm (detectado mediante H&E o IHC, incluyendo la ITC).
pN0(mol–)	Histológicamente no hay metástasis a ganglio linfático regional, hallazgos moleculares negativos (RT-PCR).
pN0(mol+)	Hallazgos moleculares positivos (RT-PCR), pero no se localizó metástasis a ganglio linfático regional alguno mediante histología o IHC.
pN1	Micrometástasis.
	O
	Metástasis en 1–3 ganglios linfáticos axilares.
	O
	Metástasis en ganglios mamarios internos con detección de metástasis localizada mediante biopsia de ganglio linfático centinela, pero sin detección clínica

pN1mi	Micrometástasis (>0,2 mm o >200 células pero ninguna >2,0 mm).
pN1a	Metástasis en 1–3 ganglios linfáticos axilares, al menos una metástasis >2,0 mm.
pN1b	Metástasis en ganglios mamarios internos con micrometástasis o macrometástasis detectada mediante biopsia de ganglio linfático centinela, pero sin detección clínica
pN1c	Metástasis en 1–3 ganglios axilares y mamarios internos con micro o macro-metástasis localizado con biopsia de ganglio centinela, pero sin detección clínica.
pN2	Metástasis en 4–9 ganglios linfáticos axilares.
	O
	Metástasis en ganglios linfáticos mamarios internos detectadas clínicamente[d] en *ausencia* de metástasis a ganglio linfático axilar.
pN2a	Metástasis en 4–9 ganglios axilares (al menos un depósito tumoral >2 mm).
pN2b	Metástasis en ganglios linfáticos mamarios internos detectados clínicamente[d] en *ausencia* de metástasis a ganglio linfático axilar.
pN3	Metástasis en ≥10 ganglios linfáticos axilares.
	O
	Metástasis en ganglios linfáticos infraclaviculares (grado III axilar).
	O
	Metástasis en ganglios linfáticos mamarios internos ipsilaterales detectados clínicamente[c] en *presencia* de ≥1 ganglios axilares positivos de grado I o II.
	O
	Metástasis en >3 ganglios linfáticos axilares y ganglios linfáticos internos mamarios con micrometástasis o macrometástasis localizada mediante biopsia de ganglio linfático centinela pero sin detección clínica.[b]
	O
	Metástasis en ganglios linfáticos ipsilaterales supraclaviculares.
pN3a	Metástasis en ≥10 ganglios linfáticos axilares (por lo menos un depósito tumoral >2,0 mm).
	O
	Metástasis a los ganglios infraclaviculares (ganglio axilar de grado III).
pN3b	Metástasis en >3 ganglios axilares y mamarios internos detectados clínicamente[c] en *presencia* de metástasis a ganglio linfático axilar de ≥1 ganglio axilar positivo;
	O
	Metástasis en >3 ganglios axilares e internos mamarios con micro o macrometástasis localizada con biopsia de ganglio centinela pero sin detección clínica.[c]
pN3c	Metástasis en ganglios linfáticos ipsilaterales supraclaviculares.

Notas. DGA = disección ganglionar axilar; H&E = hematoxilina y eosina; IHC = inmunohistoquímica; ITC = células tumorales aisladas; RT-PCR = reacción en cadena de la transcriptasa/polimerasa inversa. (a) La clasificación se fundamenta en la disección de ganglios linfáticos axilares con biopsia de ganglio linfático centinela o sin esta. La clasificación que se fundamenta solo en la biopsia de ganglio linfático centinela sin una disección de ganglio linfático axilar subsiguiente, se designa como (sn) para "ganglio centinela", por ejemplo pN0(sn). (b) "Sin detección clínica". Se define como no localizable mediante estudios de imagen (excluyendo la linfogammagrafía) o no localizable mediante exámenes clínicos. (c) "Detectado clínicamente" se define como localizable con estudios de imagen (que excluye la linfogammagrafía) o mediante examen clínico, y tener características altamente sospechosas de una neoplasia o una presunta macrometástasis patológica sobre la base de una PAAF con examen citológico.

M, metástasis a distancia

M0	No hay prueba clínica o radiográfica de metástasis a distancia.
cM0(i+)	No hay prueba clínica o radiográfica de metástasis a distancia, pero sí detección de depósitos de células tumorales moleculares o microscópicas en la sangre circulante, médula ósea u otros tejidos ganglionares no regionales, que tienen ≤0.2 mm en pacientes sin signos o síntomas de metástasis.
M1	Hay metástasis a distancia según lo determinan medios clínicos o radiográficos clásicos o se comprueba por medios histológicos que tiene >0.2 mm.

Los cambios principales registrados en la revisión de 2002 fueron los relacionados con el tamaño, número, localización y detección de las metástasis ganglionares. El cambio más significativo fue la decisión de distinguir entre micrometástasis y células tumorales aisladas basándose en el tamaño, ya que el estudio exhaustivo de los ganglios da como resultado la detección más frecuente de lesiones minúsculas, algunas a nivel de células únicas o de pequeños grupos de éstas, y cuya importancia clínica no había podido definirse con la precisión deseada.

La última revisión del AJCC fue en el año 2010, manteniéndose prácticamente igual a la revisión hecha en 2003 (Singletary and Connolly 2006; UICC 2010) (Tablas 3 y 4 de esta sección).

Tabla 4. Descripción del estadio tumoral en función del TNM (UICC 2010)

Estadio	T	N	M
0	Tis	N0	M0
IA	T1[b]	N0	M0
IB	T0	N1mi	M0
	T1[b]	N1mi	M0
IIA	T0	N1[c]	M0
	T1[b]	N1[c]	M0
	T2	N0	M0
IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIA	T0	N2	M0
	T1[b]	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
IIIB	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
IIIC	Cualquier T	N3	M0
IV	Cualquier T	Cualquier N	M1

1.3. GENÉTICA

El cáncer de mama, como cualquier otro tipo de tumor, debe considerarse una enfermedad genética, ya que es necesario que existan mutaciones en determinados genes (proto-oncogenes) para que las células malignicen su comportamiento y adquieran la capacidad de multiplicarse sin control y migrar a otros tejidos. No obstante, menos del 10% de los cánceres de mama están relacionados de forma directa con mutaciones de la línea germinal. En este campo se ha experimentado un avance considerable con la identificación de varios genes responsables de la heredabilidad de la enfermedad (cáncer familiar). Las primeras mutaciones identificadas fueron las de la línea germinal del gen supresor *p53*, cuya principal función es la de inducir la apoptosis de aquellas células con alteraciones genéticas "*peligrosas*". En el trastorno provocado por las mutaciones en *p53*, denominado síndrome de *Li-Fraumeni,* las mutaciones heredadas del gen aumentan la incidencia de cáncer de mama, osteosarcomas y otros tumores malignos. El *p53* se encuentra mutado en el 50% de los casos de cáncer de mama, e influye negativamente en el pronóstico de pacientes sin afectación ganglionar.

El *BRCA-1* es otro importante gen supresor de tumores, identificado en el locus cromosómico *17q21*, y que codifica una proteína digital de zinc cuyo producto puede por lo tanto funcionar como factor de transcripción. Las mujeres que heredan un alelo mutado de este gen de cualquiera de sus progenitores, tienen un riesgo aproximado del 85% al 90% de padecer cáncer de mama a lo largo de su vida, así como un riesgo en torno al 33% de presentar cáncer de ovario. Los hombres portadores de un alelo mutado del gen sufren un aumento de la incidencia de cáncer de próstata, pero habitualmente no de cáncer de mama.

El *BRCA-2* es otro gen supresor localizado en el cromosoma 11, cuya mutación se acompaña de un aumento de la incidencia de cáncer de mama tanto en los hombres como en las mujeres.

Aunque los genes comúnmente asociados al cáncer de mama familiar son p53 y BRCA1/2, existen otros cuya mutación aumenta el riesgo de desarrollo de la

enfermedad. Es el caso del gen de la *ataxia-telangectasia,* que lleva emparejada una llamativa sensibilidad a la radiación cuando aparece mutado, incluso en los heterocigotos, y cuya frecuencia en la población general es del 1 al 2%. Debido a esta susceptibilidad a la radiación, los portadores heterocigotos de este gen tienen un mayor riesgo de desarrollar cáncer por someterse con frecuencia a procedimientos tales como la mamografía de detección precoz (Goss and Sierra 1998).

Aún más importante que el papel de estos genes en las formas hereditarias de susceptibilidad al cáncer de mama, es su implicación en el cáncer de mama esporádico. Así, aproximadamente el 40% de los cánceres de mama humanos presentan una mutación adquirida (no germinal) del gen *p53*. En cuanto al *BRCA-1*, algunos autores han encontrado una disminución de la expresión del *ARNm* del *BRCA-1* en cánceres de mama esporádicos, así como una localización celular anormal de la proteína de dicho gen, que podría indicar su probable papel en la patogenia de esta enfermedad (Hasan et al. 2013).

A diferencia de los genes supresores, los oncogenes son genes cuya mutación produce un aumento en la función que se asocia a un incremento de la susceptibilidad de aparición de un proceso tumoral. Existe un oncogén dominante que está implicado en la cuarta parte de los casos de cáncer de mama y que codifica para una superfamilia de receptores para el factor de crecimiento epidérmico denominado *erbB2 (HER-2, neu),* que se expresa de forma excesiva por amplificación génica, pudiendo originar esta sobre-expresión una transformación maligna del epitelio mamario.

Pero no solo las mutaciones genéticas son las responsables del origen de este tipo de tumores. También se sabe que en casos esporádicos de cáncer de mama parecen haberse perdido otros tipos de actividad supresora de tumores, como se pone de manifiesto por la pérdida de la heterocigosidad o el aumento del número de copias de oncogenes, entre otras alteraciones genéticas.

Muchos de estos genes son utilizados en la actualidad como dianas terapéuticas (como el *Herceptin®,* anticuerpo monoclonal usado en el

tratamiento del cáncer de mama con sobreexpresión de HER-2); y constituyen una importante línea de investigación en el tratamiento de la enfermedad modificando el curso de la misma, al tomar como objetivo los genes responsables del proceso maligno.

1.4. EPIDEMILOLOGÍA

1.4.1. Incidencia

El cáncer de mama es el tumor más frecuente entre las mujeres de todo el mundo, con aproximadamente 1.151.000 nuevos casos al año (22,7% del total de los tumores femeninos). Considerando los dos sexos, es el segundo en frecuencia en el mundo después del cáncer de pulmón. Su incidencia es mayor en los países desarrollados occidentalizados, donde se diagnostican más de la mitad de los casos: 370.000 casos al año en Europa (27,4%) y 230.000 en Norteamérica (31,3%) (Curado 2011).

El cáncer de mama es también una neoplasia muy frecuente en las mujeres de la Comunidad Europea. Durante el año 2000, se diagnosticaron casi 350.000 nuevos casos en Europa, lo que representa el 28% de todos los cánceres de la población femenina. Su tasa de incidencia varía mucho según la localización geográfica, encontrando la máxima incidencia en países del norte de Europa, entre los que destaca Holanda, Dinamarca y Finlandia, con cifras de 91.6, 86.2 y 78.4 casos por cada 100.000 habitantes/año respectivamente. Las tasas de incidencia más bajas observadas en Europa corresponden a Macedonia, Lituania, Bielorrusia y Letonia (38.7, 39.8, 39.8 y 42.2 por 100.000 habitantes/año respectivamente) (Bray et al. 2002).

El área mediterránea, a excepción de Francia e Italia, es una región de incidencia media. En el año 2000 se diagnosticaron 14.934 nuevos casos en nuestro país, siendo la tasa de incidencia ajustada a la población mundial de 47.9 casos/100.000 habitantes para ese mismo periodo de tiempo. La incidencia en la Comunidad Autónoma de Canarias supera la media nacional,

con 58.1 nuevos casos por 100.000 habitantes/año (Cabanes-Domenech et al. 2009).

La incidencia en nuestro país es baja respecto al resto del mundo. Así por ejemplo, la tasa ajustada mundial estimada en 2002 fue de 37,4 casos/100.000 habitantes/año, la de Europa del Norte de 82,5 casos/100.000 habitantes/año, la del sur de Europa de 62,4 casos/100.000 habitantes/año y la española de 50,9 casos/100.000 habitantes/año. La tasa de incidencia norteamericana fue de 99,4 casos/100.000 habitantes/año mientras que la de países en vías de desarrollo fue de 23,8 casos/100.000 habitantes/año. Para explicar estas diferencias en la incidencia hay que tener en cuenta distintos factores ambientales que parecen ser determinantes en la modulación del riesgo de padecer la enfermedad, entre los que destacan la esperanza de vida (es un tumor propio de mujeres peri/post menopáusicas), los hábitos de vida nocivos (sedentarismo y tabaquismo), la alimentación y la exposición a contaminantes.

En España se diagnostican unos 16.000 casos al año, lo que representa más del 25 % de todos los tumores del sexo femenino en nuestro país. La mayoría de los casos se diagnostican entre los 35 y los 80 años, con una mayor frecuencia en el rango de edad comprendido entre los 45 y los 65. Tanto el número de casos como la tasa de incidencia han ido aumentando lentamente en España y en el mundo (Fig.2), probablemente debido al envejecimiento de la población y a un diagnóstico cada vez más precoz. El aumento de la incidencia se estima en un 1-2% anual y es constante desde 1960 en Estados Unidos (Curado 2011).

La distribución geográfica de la incidencia del cáncer de mama varía según la provincia. Dado que la Comunidad Autónoma de Canarias tiene un registro oficial de tumores, los datos son muy fiables. Según las últimas estadísticas, nuestra Comunidad Autónoma se encuentra entre las 5 con mayor incidencia de la enfermedad, junto a Girona, Navarra, Tarragona y País Vasco (Cabanes-Domenech et al. 2009). Así, en Canarias la tasa de incidencia para el periodo 1997-2002 fue de 62/100.000 mujeres, en País Vasco fue de 114/100.000 mujeres (la mayor del país), mientras que la media nacional se situaba en 50,9

casos/100.000 mujeres. La incidencia ha experimentado un aumento en las últimas décadas, con una estabilización a partir del año 2002 (Cabanes-Domenech et al. 2009).

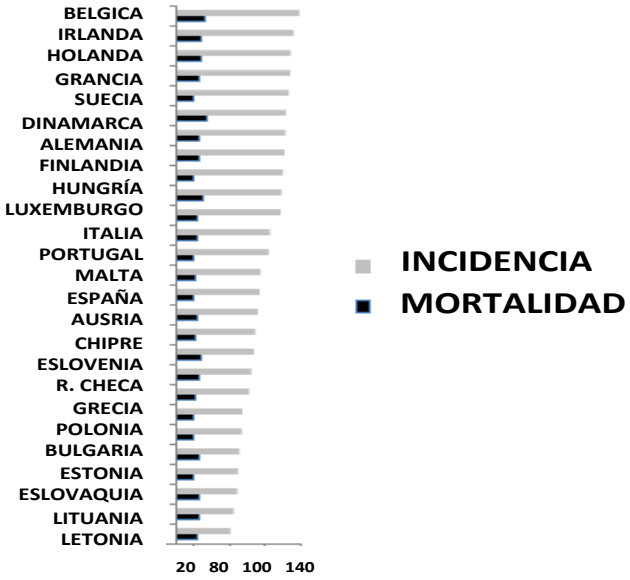

Figura 2. Tasas ajustadas de incidencia y mortalidad del cáncer de mama, en casos/100.000 mujeres, para España y los países de su entorno para el año 2006 (Fuente: La situación del cáncer en España 1975-2006).

1.4.2. Supervivencia

La supervivencia global a los 5 años (sin tener en cuenta edad, tipo histológico o fase de la enfermedad) en nuestro país es del 80.3 %, siendo similar a la media Europea, que se sitúa en el 81.1 % (Cabanes-Domenech et al. 2009).

La supervivencia ha mejorado notablemente en la última década, pasando del 64% para casos diagnosticados entre 1980 y 1985, al 78% para los diagnosticados entre 1990 y 1994, hasta las cifras actuales que son todavía superiores. Los avances en el diagnóstico precoz y en los tratamientos hacen pensar que esta tendencia al alza continúe. La puesta en marcha de campañas y programas de cribado de cáncer de mama, que permiten un diagnóstico precoz de la enfermedad y una mayor eficacia de los tratamientos podrían explicar esta tendencia.

1.4.3. Mortalidad

El cáncer de mama causó 411.000 muertes en todo el mundo en el año 2002, siendo la primera causa de muerte por cáncer entre las mujeres (14% del total de fallecimientos por tumores malignos). Si consideramos los dos sexos, sólo le superan los cánceres de pulmón, estómago y colorrectales. La tasa de mortalidad es de 22,6 personas por cada 100.000 habitantes/año en Europa del Norte, pero igual que para la incidencia, la mortalidad por cáncer de mama en España es de las más bajas dentro de los países europeos (tasa ajustada a la población mundial en 2002: 15,9 fallecimientos/100.000 habitantes/año).

En España, mueren unas 6.000 mujeres al año por cáncer de mama, l que representa el 16,7% de todos los fallecimientos por cáncer del sexo femenino y el 3,3% del total de muertes entre las mujeres. La edad media al fallecimiento por cáncer de mama es de 66 años. Al igual que la incidencia de esta enfermedad, las tasas de mortalidad varían de unos países a otros.

Dentro de la geografía española, la provincia de Las Palmas registró 19.17 muertes por cada 100.000 habitantes en 2003 (ligeramente por debajo de la media nacional para ese año que fue de 20.01) y 19.15 muertes por cada 100.000 habitantes en 2006 (ligeramente por encima de la media nacional para ese año que fue de 18.80) (Fig.3).

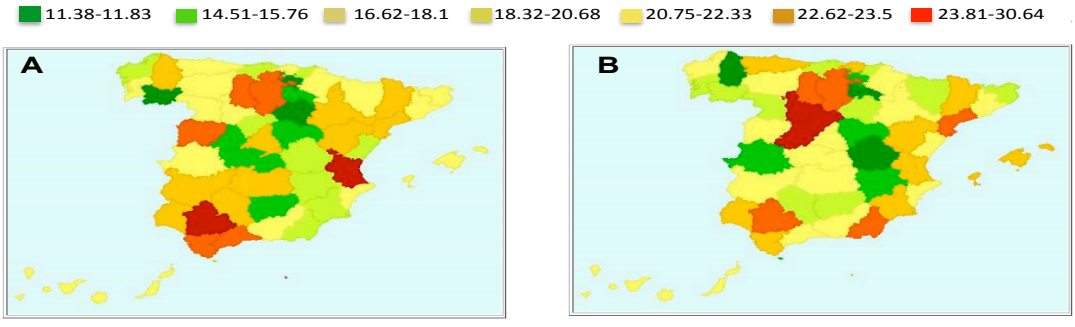

Figura 3. Distribución por provincias de la mortalidad por cáncer de mama en los años 2003 (A) y 2006 (B). Casos por cada 100.000 habitantes (tasa corregida por los valores de la población europea Fuente: programa Ariadna del Instituto de Salud Carlos III).

Mientras que el número de casos y la tasa de incidencia aumentan lentamente, la tasa de mortalidad está descendiendo, debido a los programas de detección precoz y a los avances diagnósticos y terapéuticos desarrollados recientemente que han conseguido un aumento de la supervivencia, que se sitúa actualmente en el 80% a los cinco años del diagnóstico. A nivel internacional, las grandes diferencias observadas hace medio siglo en la mortalidad por este tumor tienden a desaparecer, proporcionando un patrón mucho más homogéneo. En España, no existe una distribución geográfica clara, estando la provincia de Las Palmas con unos índices de mortalidad similares a los de la media nacional.

1.5. FACTORES DE RIESGO

El cáncer de mama es una neoplasia de etiología compleja y no del todo conocida, donde hay una alta influencia hormonal en el origen de la enfermedad. Ya desde el siglo XIX, se observó que la ovariectomía atrofiaba el cáncer de mama inoperable, y George Beatson introdujo en 1896 la extirpación de los ovarios para el tratamiento del cáncer de mama avanzado. Se sabe desde hace décadas que el cáncer de mama es una enfermedad hormonodependiente, y específicamente dependiente de los estrógenos. Mujeres sin ovarios funcionantes que nunca hayan recibido terapia estrogénica sustitutiva no parecen desarrollar la enfermedad; y la proporción mujeres/varones en este tipo de cáncer es aproximadamente 100 a 1. Además, existe una amplia evidencia científica que indica que las hormonas estrogénicas desempeñan un papel crítico como promotoras de la enfermedad.

El papel de los estrógenos como factor de riesgo del cáncer de mama está muy bien estudiado, siendo clave el tiempo total de exposición a estas hormonas en la mujer. Debido a ello, la menarquia temprana, la menopausia tardía y la ausencia de embarazo y/o lactancia son factores de riesgo asociados a la enfermedad. Las mujeres que experimentan la menarquia a los 16 años de edad tienen sólo del 50 al 60% de riesgo de sufrir cáncer de mama a lo largo de la vida, con respecto a las mujeres cuya menarquia aparece a los 12 años de edad. De forma similar, la menopausia 10 años antes de su mediana de

edad (52 años), sea de forma natural o inducida quirúrgicamente, disminuye el riesgo de cáncer de mama a lo largo de la vida aproximadamente en un 35%. La edad del primer embarazo a término, como hemos dicho, también influye en el riesgo de desarrollar la enfermedad. Por lo tanto, la duración de la vida menstrual, en especial de la fracción anterior a la primera gestación a término, y del tiempo de exposición al factor estrogénico, es un componente sustancial del riesgo total de desarrollar un cáncer de mama.

No obstante, además de los factores inherentes a la fisiología de la mujer, existe un alto componente medioambiental en el riesgo de desarrollo de la enfermedad. Esto explica que una mujer que vive en Norteamérica hasta los 80 años de edad tenga una posibilidad entre nueve de padecer cáncer de mama invasor, mientras que las mujeres asiáticas tienen un riesgo de cáncer de mama equivalente a la quinta a décima parte del de las mujeres norteamericanas y europeas occidentales, y tienen concentraciones sustancialmente más bajas de estrógenos y progesterona en sangre. Estas diferencias no se pueden explicar sólo por un fundamento genético, ya que las mujeres asiáticas que viven en un entorno occidental tienen el mismo riesgo de padecer la enfermedad que sus compañeras occidentales. Además, estas mujeres también difieren llamativamente en peso y altura de las mujeres asiáticas que viven en Asia; y es de sobra conocido que tanto la altura como el peso son factores que pueden influir en la edad de la menarquia y tienen efectos considerables en las concentraciones plasmáticas de estrógenos.

El papel de la dieta en la etiología del cáncer de mama es objeto de controversia. Aunque existen vínculos que relacionan la ingestión calórica total y el riesgo de cáncer de mama, la relación más estrecha es con el contenido elevado de grasa en la dieta. Sin embargo, dentro del grado de ingestión de grasa dietética frecuente en las culturas occidentales, no existen pruebas convincentes de que las variaciones en la grasa dietética modifiquen el riesgo de padecer cáncer de mama (Prentice et al. 2006). No obstante, las segundas y sucesivas generaciones de orientales emigrados a EE.UU. aumentan sus tasas de incidencia por cáncer de mama hasta niveles similares a los de las propias norteamericanas.

También en cuanto a la dieta, se sabe que existe un riesgo asociado al consumo moderado de alcohol, pero se desconoce el mecanismo por el cual la ingesta de esta sustancia aumenta el riesgo de padecer la enfermedad. Las recomendaciones a favor de la abstinencia de alcohol deben sopesarse con otras presiones sociales, y con el posible efecto cardioprotector de la ingestión moderada del mismo (Singletary and Gapstur 2001).

Además del papel determinante que las hormonas endógenas tienen sobre el origen del cáncer de mama, se ha investigado mucho acerca de la influencia de las hormonas exógenas tomadas por las mujeres en forma de anticonceptivos orales o terapias hormonales sustitutivas. Los metaanálisis más creíbles respecto a la utilización de anticonceptivos orales sugieren que las mujeres que los toman tienen un RR (riesgo relativo) de 1,24 frente a las que no usan este tratamiento, y que dicho riesgo se mantiene hasta diez años tras la suspensión del mismo (Collaborative_Group_on_Hormonal_Factors_in_Breast_Cancer 1996).

En esa misma línea, los resultados provenientes de la ***Women's Health Initiative*** demuestran que el uso diario de la terapia hormonal sustitutiva de estrógeno-progestina aumenta el riesgo de llegar a tener cáncer de mama en comparación con aquellas mujeres que no reciben esta terapia. Además también es más elevado el riesgo de presentar un cáncer de mama detectado en una etapa más avanzada, y existe más propensión a tener mamografías anormales (Chlebowski et al. 2003).

Por último, la radiación puede ser un factor de riesgo a tener en cuenta especialmente en mujeres jóvenes. De hecho, aquéllas que han sido expuestas antes de los 30 años a radiación en forma de múltiples radiografías (dosis de radiación comprendida entre los 200 y 300 cGy) o a tratamiento contra la enfermedad de Hodgkin (dosis recibida superior a 3600 cGy) tienen un incremento sustancial del riesgo de cáncer de mama; mientras que la exposición a la radiación después de los 30 años parece tener un efecto carcinogénico mínimo sobre la mama (Ronckers et al. 2005).

No existe una combinación de factores de riesgo que pueda ser utilizada para delimitar un grupo de mujeres sin riesgo de cáncer de mama. Por contra, la existencia de determinadas mutaciones en el gen *BRCA-1* permite identificar mujeres que se enfrentan a una probabilidad de padecer cáncer de mama a lo largo de la vida del 85% al 90% (con un riesgo del 70% a los 60 años de edad).

1.6. DIAGNÓSTICO DEL CANCER DE MAMA

El cáncer de mama es uno de los pocos en los que se plantea que la detección precoz, mediante mamografía anual, pueda mejorar la supervivencia. Los metaanálisis que examinan los resultados de todos los ensayos aleatorizados de mamografía muestran de forma concluyente una disminución del 25 al 30% de la probabilidad de morir de cáncer de mama con la mamografía anual después de los 50 años de edad (Wald et al. 1994); siendo además los datos referentes a las mujeres de 40 a 50 años casi tan positivos. Por ello, y a pesar de que sigue siendo objeto de controversia, parece prudente recomendar la mamografía anual sistemática a las mujeres después de los 40 años. Aunque el beneficio de esta práctica puede ser objeto de debate, para la inmensa mayoría de las mujeres la mamografía no supone ningún riesgo añadido (Buseman et al. 2003; Hackshaw 2003).

Casi todos los casos de cáncer de mama se diagnostican a partir de la realización de una mamografía (en forma de lesiones no palpables, microcalcificaciones agrupadas, distorsión del parénquima...), y en menor medida tras la exploración mamaria (presencia de masas o nódulos palpables).

1.6.1. Masas y nódulos palpables

Existen autores que opinan que a las mujeres se les debería animar a realizar la autoexploración mamaria. A pesar de que ningún estudio randomizado sobre esta práctica ha demostrado un aumento global en la supervivencia, su mayor

beneficio radica en la identificación de tumores apropiados para el tratamiento conservador de la glándula.

La exploración física realizada debe llevarse a cabo con luz suficiente como para observar retracciones y otros cambios en la piel (Fig.4). Deben inspeccionarse el pezón y la areola, y prestar atención a cualquier exudado areolar. También deben explorarse todos los ganglios linfáticos regionales en busca de adenopatías palpables, y debe medirse cualquier lesión encontrada.

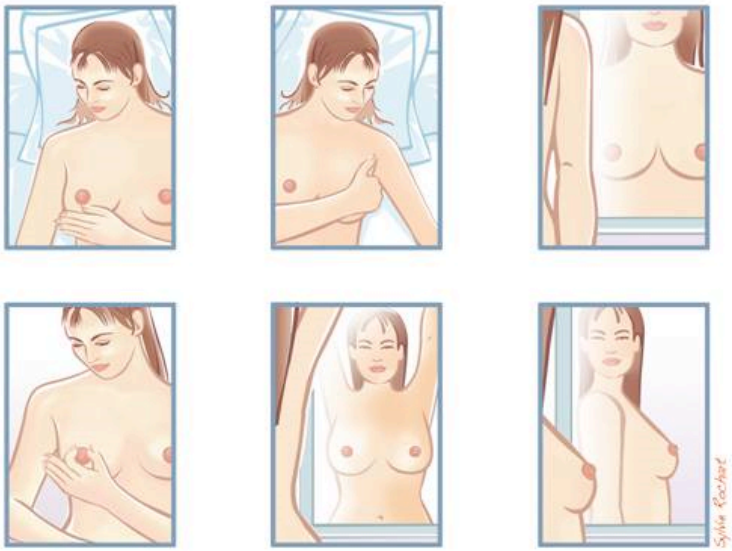

Figura 4. Diagramas representativos de una autoexploración mamaria.

Aunque existen signos físicos que hacen sospechar la etiología maligna de ciertos nódulos (irregularidad, dureza, adhesión a planos profundos), la exploración física por sí sola no puede descartar malignidad (Fig.5). Además, una mamografía normal en presencia de un nódulo mamario tampoco excluye malignidad. En las mujeres premenopáusicas, las lesiones que pueden ser equívocas o dudosas, deben analizarse y/o reevaluarse en el plazo de 2-4 semanas durante la fase folicular del ciclo menstrual.

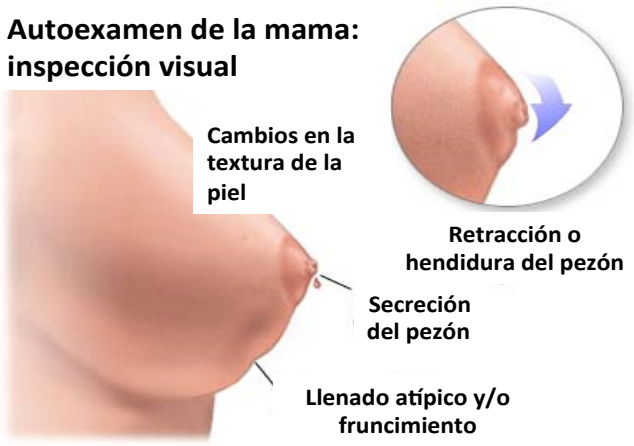

Figura 5. Hallazgos visuales sospechosos de malignidad.

Si se trata de lesiones sólidas persistentes, recurrentes, complejas, o el aspirado es hemático, entonces está indicada una mamografía y una biopsia de la lesión. La ecografía también se utiliza para diferenciar lesiones sólidas de quistes, sin embargo, no todas las lesiones sólidas son detectadas por la ultrasonografía, y por lo tanto, una masa palpable que no se observe en la ecografía debe considerarse como sólida.

1.6.2. La mamografía anormal

La mamografía es una técnica diagnóstica que debe realizarse en toda paciente con sospecha de carcinoma de mama. Tiene una sensibilidad del 90% y una especificidad del 94%.

Las pequeñas anormalidades detectadas en la mamografía deben evaluarse cuidadosamente mediante compresión y proyecciones magnificadas. Estas alteraciones incluyen microcalcificaciones agrupadas, aumento de la densidad (especialmente si son espiculadas), y distorsión del parénquima. Para algunas lesiones no palpables, la ecografía puede ser de utilidad tanto en identificar los quistes como en guiar la biopsia (Fig.6). Si no hay lesión palpable y la mamografía es normal, la paciente deberá realizarse un seguimiento acorde a su edad.

Figura 6. Imágenes de mamografía representativas de una mama normal (A), y otra con presencia de tumor (B). (Imagen propia)

Existen determinados signos mamográficos altamente sugestivos de malignidad de las lesiones estudiadas, como por ejemplo la presencia de un nódulo denso con márgenes espiculados, la pérdida de la arquitectura y de la estructuración del tejido mamario o la existencia de microcalcificaciones agrupadas anárquicamente.

Para la evaluación de las mamografías en la actualidad se utiliza el sistema **BI-RADS** (*Breast Imaging Reporting and Data System*) (Kallergi et al. 1998). Este sistema clasifica las lesiones mamarias en categorías del 1 al 6, en el cual BI-RADS 1 se corresponde a una mamografía normal o negativa, y BI-RADS 6 a un estudio patológico con confirmación histológica de malignidad (Tabla 5). Las categorías BI-RADS 4-5 se correlacionan con lesiones sospechosas que tendrán que ser biopsiadas. Se debe descartar además la afectación multifocal, multicéntrica o bilateral del cáncer.

Tabla 5. Clasificación de las mamas estudiadas con mamografía, según el *Breast Imaging Reporting and Data System (BIRADS),* 4ª edición, 2003.

CLASIFICACIÓN BI-RADS, (2003)		
Categoría 0	**Incompleta**	Evaluación incompleta. Se requiere re-evaluación por imágenes (magnificación, focalización, ultrasonido, etc.)
Categoría 1	**Negativa**	Negativa, mama normal. Seguimiento de rutina
Categoría 2	**Benigna**	Hallazgo benigno (fibroadenoma, lesiones grasas, ganglios intramamarios, etc.). Seguimiento de rutina
Categoría 3	**Probablemente benigna**	Hallazgo con muchas probabilidades de ser benigno (>98%). Seguimiento corto: seis meses
Categoría 4	**Anormalidades sospechosas**	Anomalías sospechosas, sin características claras de malignidad, pero con probabilidad razonable de ser malignas (3-94%). Considerar biopsia.
Categoría 5	**Probablemente maligna**	Lesiones con alta probabilidad de malignidad. Biopsia y acciones oportunas
Categoría6	**Malignidad comprobada por biopsia**	La conducta a seguir dependerá de la correlación radio-histológica.

1.7. DIAGNÓSTICO DE EXTENSIÓN

El diagnóstico de extensión en los pacientes con cáncer de mama reviste una extraordinaria importancia que decidirá el tratamiento de la paciente y condicionará su supervivencia. Por tanto, no solo permite un pronóstico preciso sino que en muchos casos la toma de decisiones terapéuticas se basa en gran medida en el estadiaje de la enfermedad.

El cáncer de mama metastatiza con relativa facilidad, y el lugar más frecuentemente afectado son los ganglios regionales. Por orden de frecuencia le siguen el pulmón, el hígado, el hueso y las glándulas suprarrenales. Muchas de las pacientes tratadas por un cáncer de mama aparentemente localizado desarrollan enfermedad metastásica. Aunque algunas de ellas pueden rescatarse empleando combinaciones de terapia local y sistémica, la mayor parte fallecen.

De entre los estudios que se realizan para determinar el alcance de la enfermedad una vez diagnosticada, se encuentran en primer lugar el hemograma y la bioquímica, para evaluar la función hepática y el metabolismo óseo, con especial hincapié en la fosfatasa alcalina. La radiografía de tórax se emplea en la búsqueda de metástasis pulmonares y la ecografía de abdomen en la de metástasis hepáticas, y son dos exploraciones realizadas en la

práctica totalidad de las pacientes. Sin embargo, otras pruebas como la gammagrafía ósea o el PET se reservan en la actualidad para casos de cáncer de mama en estadios II-III, carcinomas localmente avanzados y en especial los casos con diseminación metastásica.

1.8. FACTORES PRONÓSTICOS

Los factores pronósticos más importantes en este tipo de cáncer vienen dados por la estadificación del mismo. El tamaño del tumor y el grado de afectación ganglionar proporcionan una información bastante precisa de la probabilidad de recidiva y de metástasis de la enfermedad. Para la mayoría de las mujeres, la necesidad de quimioterapia sistémica puede basarse en estos dos factores mencionados. Es de sobra conocido que cuanto mayor es el tumor mayor es el riesgo de afectación ganglionar y peor es el pronóstico, aunque ambos actúan como factores pronósticos independientes en el curso de la enfermedad. También se verá más adelante el protagonismo que han ido adquiriendo los factores moleculares a la hora de decidir el tratamiento sistémico

La afectación ganglionar continúa siendo el factor pronóstico más importante en la actualidad. El número de ganglios afectados también influye, de manera que una mayor afectación implica un peor pronóstico. Sin embargo, el verdadero valor de las micrometástasis objetivadas por técnicas de IHQ o PCR está aún por determinar.

La clasificación histológica del tumor también se ha utilizado como factor pronóstico. En principio, los tumores con un grado de diferenciación pobre tienen un mayor riesgo de recidiva que aquéllos bien diferenciados. Los tumores indiferenciados, con necrosis, invasión vascular y/o linfática, alto grado nuclear o inflamatorios tienen una tasa mayor de recidiva o peor pronóstico. En este contexto hay que destacar varios tipos histológicos asociados a muy buen pronóstico como el mucinoso, papilar, tubular, medular puro y adenoquístico. La multicentricidad del tumor es otro factor pronóstico de mayor riesgo de recidiva.

Además de los clínicos, existen una serie de factores moleculares más o menos establecidos, entre los cuales destaca el nivel de expresión tumoral de los receptores de estrógenos y progesterona. Dado que aquellas mujeres con receptores hormonales positivos se podrán beneficiar de terapias secundarias (el ejemplo más característico es el uso de bloqueadores del receptor de estrógenos, como es el tamoxifeno), aquellos tumores que carecen de estos tipos de receptores tienen un peor pronóstico y mayor riesgo de recidiva. La ausencia de receptores hormonales implica un peor pronóstico en cuanto a supervivencia.

Otros factores moleculares utilizados en el pronóstico del cáncer de mama son los indicadores de crecimiento tumoral. Existen diferentes técnicas para conocer el grado de proliferación celular del tumor. El análisis de la fase S del ciclo celular mediante citometría de flujo es una medida bastante exacta de valoración. Por otro lado, la evaluación indirecta de la fase S del ciclo celular mediante el uso de anticuerpos frente a proteínas asociadas al ciclo celular, tales como el *PCNA (Ki67*), también son valiosos (Goldhirsch et al. 2011). Algunos estudios sugieren que los tumores con una alta proporción de células en fase S presentan un mayor riesgo de recidiva, y que la quimioterapia ofrece los mayores beneficios en la supervivencia para los pacientes con este tipo de tumores. Por esta razón, se ha generalizado la valoración de la fase S del ciclo celular como un factor determinante para decidir la necesidad de instaurar tratamiento adyuvante en aquellos casos en los que otras características patológicas no están claras.

La presencia de determinados cambios moleculares en el tumor también se usa como factor pronóstico de la enfermedad. Se sabe que los tumores que sobreexpresan el gen *erbB2 (HER-2/neu*) o que tienen mutaciones en el gen *p53,* tienen un peor pronóstico. No obstante, aquellos tumores con sobreexpresión de *HER-2/neu* pueden beneficiarse de una terapia adicional basada en el bloqueo específico de esa proteína (con Trastuzumab), lo cual, en última instancia, mejoraría el pronóstico de la enfermedad. Además, los tumores que tienen sobreexpresión del *erbB2* tienen mayores posibilidades de

responder a los regímenes que llevan altas dosis de doxorrubicina. Por tal razón, la expresión del *erbB2* es útil en la toma de decisiones terapéuticas.

Otras variables que han sido relacionadas con el pronóstico incluyen proteínas asociadas con la invasividad del tumor tales como la colagenasa tipo IV, la catepsina D, el activador del plasminógeno y su receptor, y el gen supresor de metástasis nm23. Ninguno de los anteriores está aceptado actualmente como variable pronóstica capaz de modificar decisiones terapéuticas, ya que la mayoría de ellas no se han evaluado usando una cohorte lo suficientemente amplia de pacientes (Li et al. 2011).

La presencia de otros marcadores moleculares como la sobreexpresión del receptor para el factor de crecimiento epidérmico (EGFR), ha permitido desarrollar nuevas terapias para aumentar la supervivencia y mejorar el pronóstico de la enfermedad (bloqueo específico del EGFR con cetuxinab). Otros marcadores tales como el receptor para el factor de crecimiento dependiente de insulina (IGFR), o nuevas proteínas como *major vaults protein* (MVP), están todavía en estudio y no tienen valor clínico constatado (Valenciano et al. 2012).

1.9. MANEJO TERAPÉUTICO

El enfoque terapéutico del cáncer de mama es multidisciplinar, utilizándose combinaciones de cirugía y radioterapia para el control local de la enfermedad, y de quimioterapia, hormonoterapia e inmunoterapia para el control sistémico. El tratamiento más adecuado para cada paciente viene dado por la combinación de factores pronósticos que cada una presenta: tamaño tumoral, ganglios linfáticos afectados (y número), presencia de metástasis a distancia, estado de los receptores hormonales (de estrógenos y de progesterona), grado de diferenciación histológico, actividad celular proliferativa, amplificación de oncogenes, etc.

1.9.1. Cirugía

La cirugía ha formado siempre parte de la base del tratamiento del cáncer de mama. Las mastectomías radicales de Halsted (extirpación de la glándula mamaria y del pectoral mayor) eran la intervención estándar hace años pero en la actualidad casi no se realizan, principalmente porque no han demostrado ventajas significativas en el control local de la enfermedad o en la supervivencia (Poggi et al. 2003).

La cirugía estándar del cáncer de mama operable se basa, actualmente en dos tipos de intervenciones, las que extirpan toda la mama y las que conservan la glándula. Las técnicas quirúrgicas que resecan la mama en su totalidad son la mastectomía radical modificada (extirpación completa de la glándula mamaria y de los ganglios de la axila, con preservación del músculo pectoral), y la mastectomía subcutánea (mastectomía con conservación de la piel).

Por otro lado, las intervenciones denominadas de "*cirugía conservadora*" (tumorectomía, cuadrantectomía), preservan la glándula mamaria, mediante la extirpación del tumor o los tumores con márgenes libres de afectación tumoral. Este tipo de intervenciones, asociadas a la radioterapia, son la técnica de elección para el tratamiento de los estadios I y II de la enfermedad, y sus resultados son comparables a la mastectomía (Veronesi et al. 1981).

Como ya se ha comentado, existen ensayos clínicos aleatorizados que han demostrado que los tratamientos conservadores, es decir, la extirpación del tumor primario mediante tumorectomía o cuadrantectomía con o sin irradiación de la mama, tienen una supervivencia tan buena como la observada tras procedimientos más amplios como pueden ser la mastectomía radical o la radical modificada, con o sin irradiación (Poggi et al. 2003). Aunque la conservación de la mama está asociada con la posibilidad de recurrencia, la supervivencia de estas pacientes a los 10 años del diagnóstico es similar a aquéllas que han sufrido una cirugía más radical.

Sin embargo, la cirugía conservadora no siempre es posible, no pudiéndose llevar a cabo en los siguientes casos: cuando el tumor es mayor de 50 mm, cuando la mama es muy pequeña, en algunos casos en los que se afecta el complejo areola-pezón, en tumores que tienen un componente intraductal extenso, en tumores multicéntricos, en aquellos que se afectan varios cuadrantes de la mama, en las mujeres que prefieren no conservar la glándula o en aquéllas que no tienen fácil acceso a la radioterapia. Con la introducción de la quimioterapia neoadyuvante es posible, en ocasiones, reducir el tamaño del tumor inicial con la intención de realizar cirugía conservadora.

El componente intraductal extenso es un factor predictivo de recurrencia en la mama. Además, tanto la afectación de los ganglios axilares como la invasión vascular o de los canales linfáticos, están asociados a un mayor riesgo de recidiva, aunque no son factores suficientes para contraindicar el tratamiento conservador. Cuando se excluyen estos pacientes y cuando se consigue una tumorectomía con márgenes libres de afectación tumoral, la conservación de la mama está asociada con una recurrencia local menor del 10%. Sin embargo, la supervivencia de las mujeres que han tenido recurrencia en la mama es algo menor que las que no la han tenido, siendo la misma un factor pronóstico negativo para la supervivencia a largo plazo.

En los últimos años se están incorporando técnicas de reconstrucción inmediata o diferida tras la mastectomía y técnicas de oncoplastia tras cirugía conservadora, que permiten una mayor calidad de vida a la paciente. En los casos en los que se plantea la reconstrucción habrá que valorar la necesidad de radioterapia adyuvante, ya que si se precisa colocar una prótesis, la fibrosis secundaria a la radiación puede ocasionar problemas.

La linfadenectomía axilar es un procedimiento que consiste en la extirpación de los ganglios linfáticos axilares y cuyo objetivo fundamental es la estadificación regional de la enfermedad. Una disección nivel I-II es eficaz para el control local, reduciendo la tasa de recurrencia del 17 al 3%, para lo cual es necesario extirpar al menos diez ganglios. En la actualidad se realiza en los casos en los que existe confirmación histológica de afectación axilar.

La técnica de la biopsia del ganglio centinela, objeto de estudio del presente trabajo, es un procedimiento por el cual se obtiene información sobre el estado ganglionar, sin necesidad de estudiar todos los ganglios. Las indicaciones, complicaciones, los beneficios e inconvenientes, serán analizados en los capítulos siguientes.

1.9.2. Radioterapia

La radioterapia, al igual que la cirugía, es un tratamiento orientado a mejorar el abordaje local del cáncer de mama y es muy eficaz en el control de la enfermedad subclínica y especialmente en tumores avanzados. La radioterapia reduce la tasa de recidiva local e incrementa el tiempo libre de la misma, así como la supervivencia. Está demostrado que la asociación de radioterapia a los tratamientos sistémicos de hormonoquimioterapia y/o quimioterapia mejora la tasa de recidiva local y de supervivencia global frente a las pacientes que reciben solo tratamiento sistémico.

En líneas generales podemos decir, que la radioterapia en la mama está indicada siempre tras la cirugía conservadora, y sobre la pared torácica después de la mastectomía en caso de tumores mayores de 50 mm y/o con ganglios positivos y/o con bordes próximos.

En cuanto a las regiones ganglionares, se administra radioterapia cuando los ganglios son positivos o cuando el tumor primario es mayor de 50 mm, independientemente de que se haya realizado tratamiento conservador o mastectomía: la región más frecuentemente irradiada es la axilar, pero también se puede tratar la supra e infraclavicular y la cadena mamaria interna.

La dosis que se debe administrar es de unos 40 Gy en 15 o 42.5 Gy en 16 fracciones, tal y como han demostrado los últimos estudios, ya que presenta mayor eficacia y conveniencia para los pacientes, que la dosis utilizada hasta el momento de 50 Gy en 25 fracciones (Whelan et al. 2010; Haviland et al. 2013).

En caso de bordes próximos se realizará una sobreimpresión de la zona, también llamada *boost.*

De entre los efectos secundarios de la radioterapia destaca la radiodermitis, presente en casi el 100% de los casos, la esofagitis en caso de irradiación de la mamaria interna, y la neumonitis. A más largo plazo se pueden observar telangiectasias, fibrosis subcutánea, linfedema, neumonitis crónica y toxicidad cardiaca.

1.9.3. Quimioterapia

La consideración del cáncer de mama como una enfermedad sistémica de inicio es la base para la indicación de tratamiento sistémico en casi todas las pacientes que la padecen. Solo en algunos casos se puede obviar el tratamiento sistémico, dado el excelente pronóstico que presenta un determinado grupo de pacientes (Paik et al. 2006; Albain et al. 2010; Drukker et al. 2013). La clasificación de las pacientes según el grupo de riesgo comenzó en Saint Gallen en el año 2005, y ha sufrido varias modificaciones hasta el 2013, año en el cual se establecieron las recomendaciones que podemos observar en la Tabla 6.

El primer esquema de tratamiento quimioterápico utilizado en el cáncer de mama fue el CMF, una combinación de ciclofosfamida, metotrexate y 5-fluorouracilo. Más tarde se introdujeron las antraciclinas (adriamicina, 4-epiadriamicina y adriamicinas liposomales), respaldadas por estudios que demostraron que la inclusión de antraciclinas era superior al los beneficios observados con CMF. Los taxanos fueron los siguientes en aparecer. En concreto el paclitaxel y docetaxel y demostraron desde el principio su utilidad en pacientes con ganglios positivos.

En el momento actual los esquemas más utilizados son los que incluyen antraciclinas y taxanos administrados de forma secuencial para aquellas pacientes que presentan ganglios positivos. Y en pacientes con ganglios

negativos se considera FEC o FAC (5-fluorouracilo, epirubicina y ciclofosfamida o (5-fluorouracilo, adriamicina, ciclofosfamida), aunque se debe considerar la inclusión de taxanos.

Tabla 6. Recomendaciones sobre el tratamiento sistémico, según el consenso de St.. Gallen 2013 (Goldhirsch et al. 2013b)

Subtipo	Tipo de tratamiento	Notas
"Tipo Luminal A"	La hormonoterapia es la intervención más crítica, y con frecuencia la única utilizada	Quimioterapia se puede añadir en pacientes seleccionados: - Alto riesgo de recurrencia en el test genómico de 21 genes, si está disponible - Alto riesgo de recurrencia en el test genómico de 71 genes, si está disponible - Enfermedad de grado histológico III. - Afectación de cuatro o más ganglios - Edad <35 años? (*El Panel de expertos de Saint Gallen 2013 se mostró dividido en cuanto a si la edad menor de 35 años es por sí misma una indicación para la QT).*
"Tipo Luminal B (HER2 negativo)"	Hormonoterapia para todos los pacientes, quimioterapia para la mayoría	
"Tipo Luminal B (HER2 positivo)"	Quimioterapia Anti-HER2 Hormonoterapia	No existen evidencias que respalden la omisión de quimioterapia en este grupo de pacientes
"HER2 positivo (no-luminal)"	Quimioterapia Anti-HER2	El umbral a partir del cual usar el anti-HER2 se definió como pT1b o mayor, o ganglios positivos.
"Triple negativo (ductal)"	Quimioterapia	
Tipos especiales[(a)]		
Hormonosensibles	Hormonoterapia	
Hormonorresistentes	Quimioterapia	Los carcinomas adenoides quísticos pueden no requerir quimioterapia si los ganglios son negativos.

(a) Tipos histológicos especiales: hormonosensibles (cribiforme, tubular y mucinoso)

En el momento actual los esquemas más utilizados son los que incluyen antraciclinas y taxanos administrados de forma secuencial para aquellas pacientes que presentan ganglios positivos. Y en pacientes con ganglios negativos se considera FEC o FAC (5-fluorouracilo, epirubicina y ciclofosfamida o (5-fluorouracilo, adriamicina, ciclofosfamida), aunque se debe considerar la inclusión de taxanos.

En la actualidad, se sabe que los tratamientos sistémicos adyuvantes proporcionan beneficios significativos en cuanto a la supervivencia libre de enfermedad en la mayoría de las pacientes y un aumento de la supervivencia global en otras muchas enfermas. Los efectos secundarios más frecuentes de la quimioterapia sistémica son: náuseas, vómitos, alopecia y mucositis.

1.9.4. Hormonoterapia

El primer fármaco antiestrogénico utilizado ha sido el tamoxifeno, que ha demostrado su beneficio en todas las mujeres pre y post-menopáusicas con receptores estrogénicos positivos o desconocidos, tanto en el control local de la enfermedad como en la supervivencia, independientemente del estatus ganglionar. La duración de este tratamiento solía ser de 5 años, pero recientemente se ha comprobado la superioridad de mantenerlo durante más tiempo (Davies et al. 2013). La asociación con quimioterapia produce un beneficio en la supervivencia en mujeres postmenopáusicas con receptores estrogénicos positivos y ganglios positivos, y en todas las pacientes premenopáusicas con receptores estrogénicos positivos independientemente del estatus ganglionar.

El tamoxifeno, a pesar de ser un antiestrógeno potente, en la mayor parte de las mujeres premenopáusicas es insuficiente para producir el bloqueo completo, por lo que se debe realizar ablación ovárica, generalmente con agonistas de la LHRH. En las mujeres postmenopáusicas, en las cuales solo existe síntesis periférica de estrógenos, se consigue el bloqueo hormonal con tamoxifeno aisladamente.

Una alternativa al tamoxifeno en la actualidad, son los inhibidores de la aromatasa (anastrozol, letrozol, exemestano). En un estudio randomizado se demostró un aumento estadísticamente significativo en la supervivencia libre de enfermedad, en las pacientes postmenopáusicas a las que se trató con letrozol tras cinco años de tamoxifeno. También existen esquemas que usan de forma secuencial el tamoxifeno y los inhibidores de la aromatasa (2 y 3 años,

respectivamente). En líneas generales, todos los inhibidores de la aromatasa han demostrado su eficacia en primera línea en adyuvancia y en enfermedad metastásica en pacientes postmenopáusicas.

1.9.5. Inmunoterapia

El trastuzumab, cuyo nombre comercial es Herceptin®, es un anticuerpo monoclonal que bloquea el dominio extracelular del receptor de membrana HER2, que está sobreexpresado hasta en el 20-25% de los cánceres de mama. Dicha sobreexpresión es un indicador de mal pronóstico de la enfermedad. Hay muchos estudios que demuestran su utilidad en el aumento de la supervivencia de las pacientes con sobreexpresión de dicho receptor, por lo que está aceptado su uso en todos los cánceres de mama con sobreexpresión de HER-2. La duración del tratamiento debe limitarse a un año, ya que no se ha encontrado beneficios al prolongarlo durante dos años (Goldhirsch et al. 2013a). Debido a la alta toxicidad cardiaca si se asocia a antraciclinas se debe usar también asociado a taxanos.

Los inhibidores de la tirosina-quinasa (gefitinib, erlotinib, cetuximab) se usan asociados a quimioterapia u hormonoterapia consiguiendo cierto beneficio. El lapatinib, asociado a capecitabina ha demostrado un aumento en el tiempo de progresión del cáncer metastásico.

En cuanto a los antiangiogénicos, se están investigando anticuerpos que bloquean la unión del VGEF al receptor (bevacizumab) o que inhiben el receptor del VEGF (sunitinib) con objeto de bloquear la angiogénesis tumoral. Sus resultados son todavía limitados.

1.9.6. Quimioterapia neoadyuvante

Consiste en la administración del tratamiento sistémico antes de la cirugía definitiva y de la radioterapia con la intención de conseguir un manejo quirúrgico conservador de la mama. Se trata de tumores que por su tamaño y

características requieren de otros tratamientos previos para disminuir el tamaño y permitir una cirugía de garantía. Debido a que la respuesta objetiva al tratamiento en este tipo de pacientes es frecuente, existen muchas mujeres en las que se logra la disminución del tamaño tumoral, y por lo tanto un tratamiento quirúrgico conservador. Sin embargo, aún no se han demostrado beneficios en la supervivencia global de la enfermedad.

2. BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA

2.1 ANATOMÍA DEL SISTEMA LINFÁTICO

2.1.1. Generalidades

El sistema linfático es una compleja red de canales que drenan fluidos y proteínas desde el espacio intersticial de los tejidos y órganos del cuerpo humano hacia la circulación central, y a la vez, un sistema de control inmunológico que engloba los ganglios linfáticos periféricos y los linfocitos circulantes.

Los canales linfáticos tienen la función de devolver el ultrafiltrado capilar y las proteínas, además de las bacterias, micelas de grasa, y células inmunitarias, hacia la circulación general a través de las venas del cuello. El flujo linfático total del organismo en reposo, a través de este sistema de canales, es de aproximadamente 2-4 litros por día, pero existen grandes variaciones dependiendo de los distintos órganos.

El sistema linfático se origina en una red de capilares terminales ciegos que absorben el fluido desde el espacio intersticial y que se denominan capilares linfáticos iniciales. Estos capilares se unen y forman los vasos linfáticos colectores que drenan la linfa hacia los vasos linfáticos aferentes y por último la conducen hasta los ganglios linfáticos.

Los ganglios linfáticos están diseminados a lo largo del organismo, de tal forma que uno o varios vasos linfáticos aferentes suelen drenar a uno o varios ganglios. Desde éstos, emergen a su vez los vasos linfáticos eferentes que drenan la linfa hacia conductos linfáticos de mayor calibre, llamados vasos linfáticos mayores que son los que llevan el fluido hacia las grandes venas del cuello a través del conducto torácico (Fig.7).

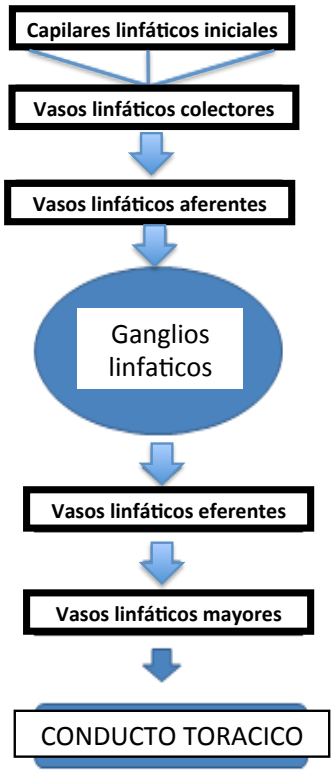

Figura 7. Esquema representativo del diseño básico del sistema linfático.

En general, los vasos linfáticos aferentes drenan la linfa hacia los ganglios linfáticos locales, pero también pueden hacerlo hacia ganglios remotos. Tanto unos como otros suelen estar organizados en grupos regionales y también pueden existir conexiones entre los ganglios de diferentes grupos. De esta forma, la linfa procedente de las diferentes regiones del cuerpo es recogida en los vasos linfáticos mayores y drena finalmente a la circulación venosa central a través del conducto torácico, localizado en la unión de la vena subclavia izquierda con las venas yugulares.

Por lo general, la linfa suele atravesar uno o varios ganglios linfáticos antes de alcanzar un vaso linfático mayor. Las excepciones a esta regla la constituyen los vasos linfáticos del tiroides, del esófago y de los ligamentos triangulares del hígado, que drenan la linfa directamente al conducto torácico sin pasar por los ganglios linfáticos (Fig.8).

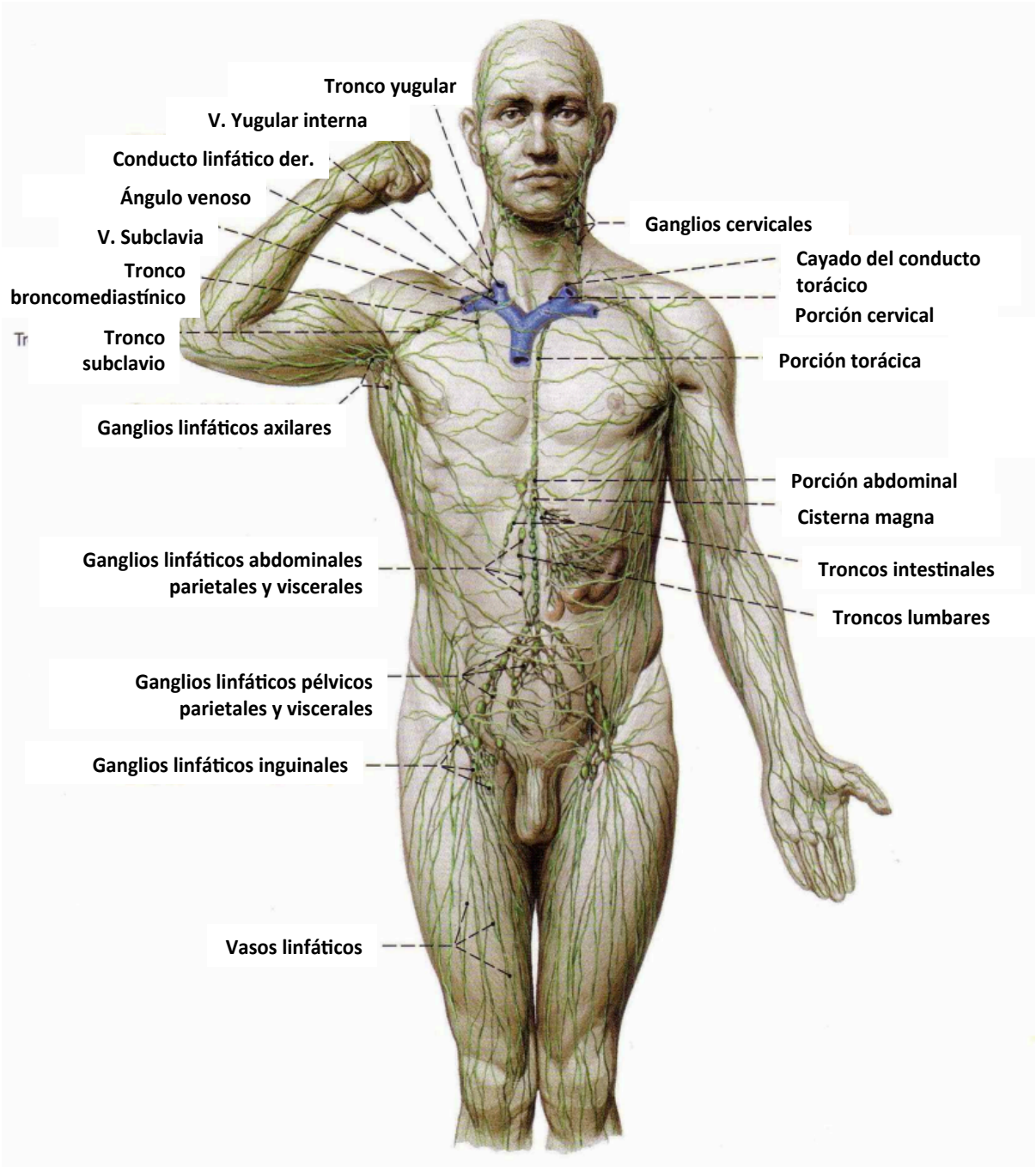

Figura 8. Diagrama representativo del sistema linfático

Capilares linfáticos iniciales

El sistema linfático se origina en los denominados capilares linfáticos iniciales. Estos capilares suelen comenzar en forma de sacos ciegos, o como una red de anastomosis de capilares de unas 10-50 micras de diámetro en el espacio intersticial, en relación directa con los capilares sanguíneos y las pequeñas vénulas. Las paredes de estos capilares linfáticos están constituidas por células endoteliales simples con una membrana basal discontinua, sujeta al tejido conectivo circundante por fibras de colágeno. Cada célula endotelial linfática es muy estrecha, midiendo 0.1 micras o menos en los bordes en los que contactan con otras células y entre 2 y 4 micras en el área perinuclear.

Las uniones interendoteliales son de una anchura aproximada de 10-25 nm, por lo que los capilares linfáticos son muy permeables a las proteínas del plasma y a algunas partículas pesadas (ocasionalmente puede haber huecos de varias micras entre las células). En estas uniones intercelulares o interendoteliales, el citoplasma de la célula se solapa de forma oblicua al de la célula contigua, de tal manera que funcionan como válvulas unidireccionales, permitiendo la entrada de fluido pero cerrándose cuando aumenta la presión intraluminal e impidiendo el flujo retrógrado de la linfa (Fig.9).

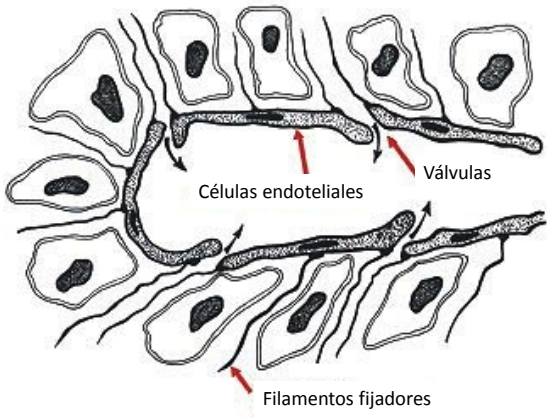

Figura 9. Diagrama representativo de los capilares linfáticos iniciales.

Hay una serie determinada de fluidos, proteínas, macromoléculas y otras sustancias, que atraviesan estas uniones endoteliales y llegan a la luz de los capilares linfáticos iniciales.

Además, se han observado invaginaciones de la membrana plasmática tanto en la superficie luminal como en la contraria, lo que sugiere que la pinocitosis puede ser responsable del transporte vesicular de las partículas mayores de 30 nm a través del endotelio linfático. De este modo, la micro-anatomía de los capilares linfáticos permite su funcionamiento como un sistema de micro-válvulas situadas entre el intersticio y el sistema linfático. A la vez que los filamentos de anclaje impiden el colapso de los capilares linfáticos iniciales, los huecos formados en las uniones interendoteliales permiten la entrada de fluido, células, bacterias y partículas sólidas. Cuando la presión intraluminal supera a la presión intersticial, se produce el cierre de las uniones endoteliales y se evita de esta forma el escape de la linfa hacia el espacio intersticial.

Vasos linfáticos colectores y aferentes

Los vasos linfáticos colectores son similares a los capilares linfáticos en cuanto a la estructura de su endotelio, pero tienen además unas válvulas semilunares bicúspides que empujan el flujo hacia los vasos linfáticos centrales y evitan el reflujo de la linfa (Fig.10). Estas válvulas tienen forma de embudo, y pueden funcionar incluso con bajos flujos de volumen, independientemente de la forma o del diámetro del vaso del que se trate. Por otro lado, la viscosidad del fluido parece ser el factor que más influye en el funcionamiento de estas válvulas. La distancia entre las válvulas es de 1-3 mm en los vasos linfáticos de pequeño tamaño, y aumenta hasta 6-12 mm en los linfáticos mayores.

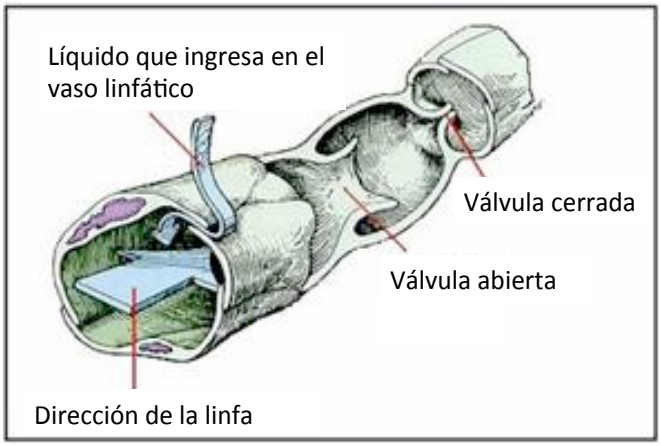

Figura 10. Estructuras valvulares de los vasos linfáticos colectores.

Las paredes de los linfáticos colectores están formadas de dentro hacia fuera por la capa íntima (compuesta por las células endoteliales y una membrana basal), la capa media (formada por músculo liso longitudinal y transversal) y la adventicia (con fibras elásticas y conectivas, fibroblastos y terminaciones nerviosas). Desde el punto de vista funcional podemos decir que los vasos linfáticos colectores forman una serie de unidades contráctiles, cada una separada de la anterior por las citadas válvulas semilunares. Cada unidad o compartimento inter-valvular forma un micro-corazón linfático llamado linfangión.

El linfangión es la unidad básica funcional del sistema linfático, y su longitud puede variar entre unos 6-20 nm en los diferentes órganos. Es conocido por el nombre de micro-corazón linfático, ya que tiene un marcapasos, realiza acciones de llenado y vaciado, y posee una contractilidad dependiente de la concentración extracelular de calcio y de la inervación simpática. El marcapasos miogénico de cada linfangión produce la contracción espontánea de las paredes de los vasos colectores linfáticos y se encuentra localizado en la capa de músculo circular, inmediatamente distal a cada válvula. Los linfangiones tienen una peristalsis espontánea de aproximadamente 10 contracciones por minuto, produciendo la apertura y el cierre sincronizado de las válvulas, que evitan el reflujo del fluido. La contractilidad de los linfangiones está regulada por la presión de llenado de los mismos, por mediadores humorales, y mecanismos neurales. Conforme aumenta la presión intraluminal,

aumenta la frecuencia de las contracciones peristálticas, lo que indica que existe una regulación miogénica. Además, el estímulo alfa adrenérgico debido a la actividad simpática aumenta la frecuencia y la fuerza de las contracciones. Por otro lado se sabe que las prostaglandinas E1, E2 e I2 inhiben la motilidad linfática, y los agentes anestésicos (por ejemplo, el halotano) también disminuyen el flujo linfático en un 25-29%.

Vasos linfáticos mayores

Las paredes de los vasos linfáticos mayores tienen una estructura similar a la de los linfáticos colectores, pero con un músculo más grueso, abundantes fibras elásticas en la capa media, y mayores terminaciones nerviosas en la adventicia. Contienen válvulas que son esenciales para mantener el flujo anterógrado de la linfa, y para prevenir la generación de fuerzas hidrostáticas debidas a la gravedad. La distancia inter-valvular es de aproximadamente unos 6-10 mm y la presión linfática puede variar desde menos de 25 mm de Hg. en ausencia de obstrucción linfática, hasta más de 100 durante la obstrucción. Los grandes conductos linfáticos de las extremidades inferiores y los de las vísceras abdominales confluyen y drenan la linfa hacia una dilatación sacular del sistema linfático llamada cisterna ciliar. Esta cisterna actúa como un reservorio temporal de la linfa que pasará posteriormente hacia el conducto torácico. El conducto torácico recibe entre un 75% del flujo linfático de todo el cuerpo y drena hacia la vena subclavia izquierda en su unión con la vena yugular.

Ganglios linfáticos

Los ganglios linfáticos son de pequeño tamaño, con forma de judía y se disponen a intervalos variables a lo largo del sistema linfático. Contienen linfocitos en maduración en los centros germinales junto a muchas células fagocíticas, y están protegidos por una cápsula (Fig.11).

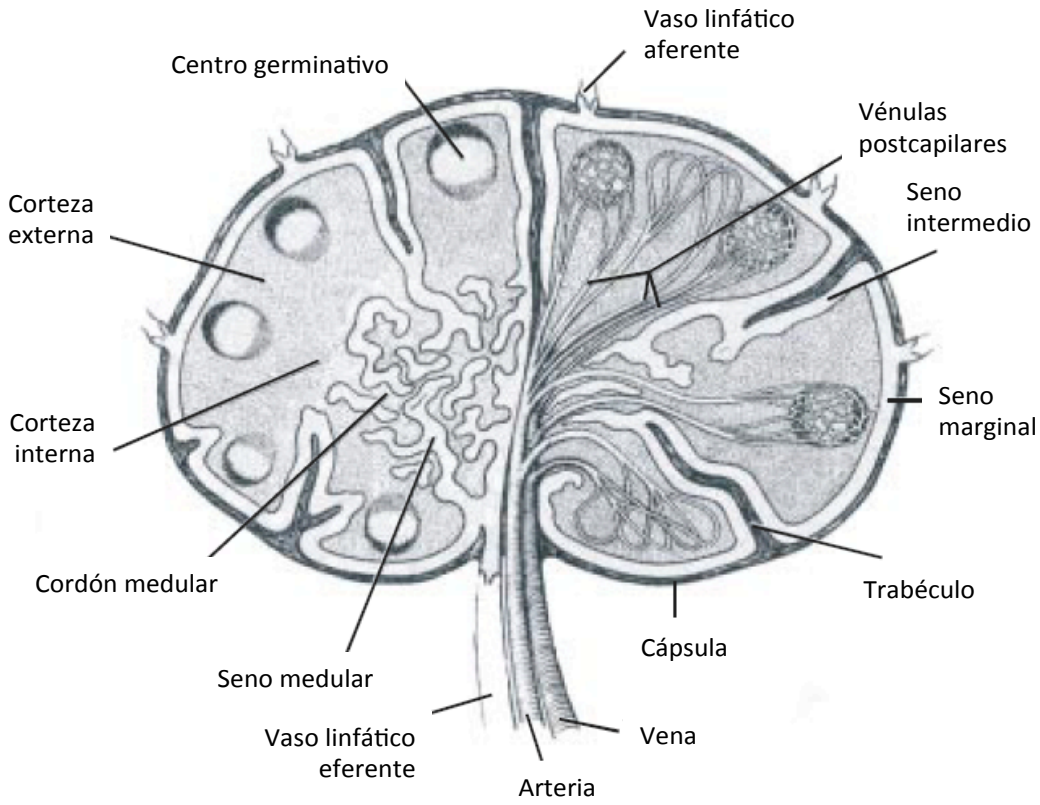

Figura 11. Estructura del ganglio linfático.

La función principal del ganglio es filtrar la linfa y actuar como un centro germinal de las repuestas inmunes. Los vasos linfáticos aferentes penetran en los ganglios a través de la corteza, favoreciendo el flujo de la linfa hacia los sinusoides del interior del ganglio, donde se liberan los linfocitos y los antígenos extraños. Además, en cada ganglio existe una red continua de capilares sanguíneos que drenan hacia las vénulas endoteliales, de manera que los linfocitos de la sangre pueden volver hacia los ganglios a través de los espacios intercelulares existentes en dichas vénulas endoteliales. Los ganglios linfáticos por lo tanto, actúan como filtros, al poseer una estructura interna de tejido conectivo fino en forma de red rellena de linfocitos que recogen y destruyen bacterias y virus. La linfa llega a través de los vasos aferentes, se filtra dentro del ganglio y se forma la respuesta inmunitaria humoral o celular correspondiente, al entrar en contacto con los componentes activos inmunitarios. Una vez filtrada la linfa, esta sale por los vasos linfáticos eferentes que abandonan el ganglio a través del hilio, y propaga la respuesta inmunitaria.

2.1.2. Sistema linfático de la mama

La mama es un órgano que deriva embriológicamente del ectodermo, por lo que en realidad es un órgano de la piel, como lo pueden ser las uñas o el pelo. Este hecho explica, por ejemplo, la interconexión que existe entre los conductos linfáticos de la piel que recubre la mama y los de la misma glándula, y hace que el drenaje linfático de ambas estructuras sea prácticamente superponible.

El tejido propiamente glandular de la mama está situado entre los vasos linfáticos de la dermis que la recubre y los vasos colectores profundos del plano posterior, estando ambos íntimamente anastomosados entre sí. La estructura valvular de los canales linfáticos hace que el flujo linfático sea unidireccional: de la superficie a la profundidad. De esta forma, la linfa fluye desde el plexo subareolar por medio de los conductos linfáticos de los conductos galactóforos, hasta los plexos perilobular y subuctáneo profundo y de ahí a los ganglios regionales (Turner-Warwick 1959).

La mayoría de los vasos linfáticos de esta red intramamaria atraviesan la fascia por la prolongación axilar de la glándula, por lo que el drenaje linfático de la mama tiene lugar de forma predominante hacia la axila. Los vasos linfáticos de la glándula mamaria comienzan en un plexo del tejido conectivo y en las paredes de los conductos galactóforos, que se comunican con el plexo subareolar cutáneo de Sappey situado alrededor de la areola. Existe otro plexo de vasos diminutos subyacente a la fascia profunda, pero que no es tan importante en el drenaje linfático normal. Los vasos eferentes que abandonan la glándula pasan cerca del borde axilar anterior a través de la fascia axilar hacia los ganglios linfáticos pectorales. Algunos vasos linfáticos pueden drenar directamente hacia ganglios subescapulares. Los vasos linfáticos de la región superior de la glándula mamaria drenan hacia los ganglios supraclaviculares, infraclaviculares o axilares (Fig.12). Los ganglios axilares reciben más del 75% de la linfa de la glándula mamaria. El resto de la linfa, especialmente la que proviene de la zona medial, suele drenar hacia la cadena mamaria interna a

través de los vasos linfáticos que acompañan a las ramas perforantes de la arteria torácica interna.

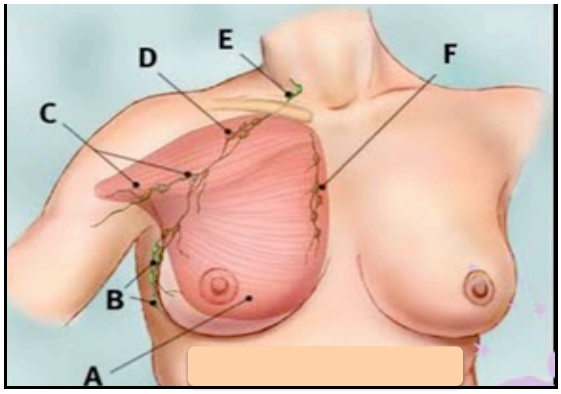

Figura 12. Representación esquemática del drenaje linfático de la mama. (A) Músculo pectoral mayor, (B) Ganglios axilares nivel I, (C) Ganglios axilares nivel II, (D) Ganglios axilares nivel III, (E) ganglios linfáticos supraclaviculares, (F) ganglios linfáticos de la cadena mamaria interna.

En ocasiones, los vasos linfáticos siguen las ramas laterales cutáneas de las arterias intercostales posteriores hacia los ganglios intercostales. Los ganglios axilares están agrupados en nivel inferior o nivel I (los que están debajo del pectoral menor), nivel medio o II (los que están detrás del pectoral menor), y III nivel o superior (ganglios entre el pectoral menor y el borde inferior de la clavícula). El drenaje de los ganglios hacia la axila suele ser primero al nivel I y desde ahí al resto, sin embargo, el drenaje directo hacia los niveles II o III tampoco es infrecuente. Puede haber uno o dos ganglios entre el pectoral mayor y el menor, llamados ganglios de Rotter's.

2.2. FISIOLOGÍA DEL SISTEMA LINFÁTICO

2.2.1. Formación de la linfa

La formación de la linfa, que es esencialmente el llenado de los capilares linfáticos iniciales, es el mayor determinante del flujo linfático. Una vez que la linfa entra en los vasos linfáticos colectores, es impulsada a través de los mismos por contracciones activas, y su flujo es unidireccional. La velocidad del

movimiento de la linfa desde la sangre hacia los capilares linfáticos atravesando el espacio intersticial puede expresarse según la siguiente relación:

$$\mathbf{Vc} = Kc\,[(Pc - Pt) - Rp\,(\Pi c - \Pi t)]$$

Donde **Vc** es el volumen del filtrado capilar, **Kc** el coeficiente de filtración, **Pc** la presión hidrostática capilar, **Pt** la presión hidrostática del fluido intersticial, **Rp** el coeficiente de reflexión de las proteínas del plasma, **Πc** la presión oncótica de las proteínas del plasma, y **Πt** la presión oncótica del fluido intersticial.

Como resultado del disbalance entre las fuerzas hidrostáticas transcapilares y las fuerzas oncóticas, se produce una presión de empuje que produce un drenaje continuo del fluido desde los capilares sanguíneos hacia el intersticio tisular. Esta pérdida de fluido normalmente está compensada por un drenaje idéntico del mismo desde el intersticio hacia los capilares linfáticos.

Se han propuesto diferentes mecanismos para explicar la entrada del fluido intersticial en los capilares linfáticos iniciales. El más aceptado es el que defiende que los solapamientos de las uniones interendoteliales de dichos capilares actúan como válvulas que favorecen el movimiento unidireccional del fluido desde el espacio intersticial hacia la luz de los vasos linfáticos. Cuando se comprimen los capilares linfáticos, debido a las contracciones del tejido circundante o a las pulsaciones arteriales, se exprime el contenido y se propulsa la linfa en sentido anterógrado. Cuando cesa dicha compresión, los capilares linfáticos vuelven a su estado original, cae la presión intraluminal y las válvulas se abren, facilitando de nuevo el llenado de dichos capilares. Esto se consigue gracias a que los filamentos de anclaje de las células endoteliales al tejido tiran de las mismas, permitiendo la apertura del capilar y estableciendo una diferencia de presión a través de la pared linfática suficiente como para extraer el fluido desde el espacio intersticial. Otro mecanismo propuesto para explicar el llenado de estos capilares linfáticos es que la concentración de proteínas en los capilares linfáticos iniciales es tres veces mayor que en el

espacio intersticial lo que produce un gradiente de presión osmótica hacia el interior que desplaza el fluido hacia los capilares linfáticos iniciales.

2.2.2. Drenaje de la linfa

La linfa se mueve a través de los vasos linfáticos colectores para ser transportada en última instancia hacia la vena subclavia, en un proceso regulado por diferentes factores extrínsecos e intrínsecos (Aukland and Reed 1993). En los vasos linfáticos que poseen músculo liso en sus paredes, que son aquellos localizados en las extremidades inferiores y en el conducto torácico, tienen lugar contracciones rítmicas intrínsecas con una frecuencia que oscila entre 10-15 por minuto. Se requiere una presión de distensión transmural de unos 2-4 cm H_2O para iniciar las contracciones del linfangión. En condiciones normales, las contracciones del linfangión aumentan la presión intraluminal en 1 o 2 mm de Hg, pero esto puede variar en las diferentes regiones del cuerpo.

La contracción del linfangión tiene lugar en cuatro fases: contracción isomérica corta, fase de eyección, relajación isométrica corta, y fase de llenado. La frecuencia de la contracción y el volumen de eyección aumentan conforme se distiende el linfangión. Además, se sabe que las catecolaminas, en concentración fisiológica aumentan la frecuencia y la amplitud de las contracciones y que los beta-agonistas, como por ejemplo la isoprenalina, reducen tanto la frecuencia como la fuerza de las contracciones. La serotonina aumenta el tono basal de los linfangiones e incrementa la amplitud de las contracciones a altas concentraciones. La bradiquinina por su parte, puede aumentar el flujo linfático como efecto secundario del aumento de la permeabilidad capilar y de la formación de fluido intersticial. Las prostaglandinas A2, B2 y F2 y el tromboxano A2 y los leucotrienos B4, C4 y D4 elevan la frecuencia y la fuerza de las contracciones de los linfangiones. Las prostaglandinas E1, E2 e I2 inhiben la motilidad linfática. Los iones de calcio son importantes para el control del marcapasos del linfangión y para la propagación del impulso generado. Por último, sabemos que la acetilcolina

mejora las contracciones, mientras que la cafeína y los anestésicos las deprimen.

Las compresiones externas ejercidas de forma intermitente sobre los canales linfáticos mejoran el flujo a través de los mismos, mientras que las compresiones externas de carácter continuo o mantenido lo reducen. Respecto a los movimientos activos de las extremidades, se sabe que la contracción muscular comprime los vasos linfáticos colectores de forma intermitente y produce un incremento discontinuo en la presión dentro de dichos vasos, lo que facilita el flujo a través de los mismos. A su vez, las válvulas localizadas en los vasos linfáticos permiten que la presión aumente progresivamente en los sucesivos segmentos.

También hay cierta evidencia de que las contracciones musculares pueden producir un aumento en la filtración capilar neta, sin embargo se desconoce hasta qué punto dichas contracciones pueden facilitar el llenado de los capilares linfáticos iniciales. Igualmente se sabe, que el masaje externo de determinada zona de drenaje produce un incremento inmediato del flujo linfático, y esto puede aplicarse durante el mapeo linfático para aumentar el flujo de los agentes administrados para localizar determinados ganglios regionales. Los movimientos respiratorios producen cambios intermitentes en las presiones intratorácicas e intraabdominales, al igual que la tos y los estornudos, y éstos cambios de presión facilitan el drenaje de la linfa de los vasos linfáticos abdominales.

2.2.3. Presión, resistencia y flujo

Existen considerables variaciones en las presiones registradas en las diferentes regiones del sistema linfático. Las presiones registradas en los linfáticos pre-ganglionares dependen de la contractilidad intrínseca del linfangión y de los movimientos activos o pasivos de los músculos vecinos. La presión hidrostática en principio no influye en las presiones linfáticas periféricas. La presión en los linfáticos colectores de la pierna varía entre 0 y 5

mm de Hg durante la diástole de los linfangiones. Durante la fase sistólica, la presión mayor puede alcanzar los 50 mm de Hg y llegar a 100 si existe alguna obstrucción.

La resistencia al flujo linfático en las grandes cisternas linfáticas, como el conducto torácico, es baja. La resistencia en los ganglios regionales es entre 50 y 200 veces mayor que la resistencia de las cisternas linfáticas. La resistencia de los ganglios linfáticos parece disminuir cuando aumenta la presión de flujo y la perfusión. El aumento de presión en las venas que drenan un ganglio linfático aumenta la resistencia del ganglio al flujo de la linfa.

El flujo linfático postganglionar en el conducto torácico humano es aproximadamente entre 1 y 3 litros por día. El hígado contribuye en un 30-50% de la totalidad de este volumen. El flujo linfático intestinal es el segundo gran contribuyente al flujo del conducto torácico, y aumenta con las comidas. Las extremidades contribuyen tan sólo en un 10%, y depende de los movimientos activos o pasivos.

Existe una marcada variación diurna del flujo linfático. Durante la noche, el flujo linfático es bajo y las concentraciones de enzimas y proteínas son elevadas. El flujo linfático puede aumentar hasta un 83% durante las contracciones musculares observadas en el ejercicio y hasta un 117% durante una inmersión de los pies en agua caliente. Existe una relación inversa entre el flujo linfático y la concentración de proteínas en la linfa. La estasis venosa puede disminuir el flujo linfático hasta un 50%.

2.2.4. Composición de la linfa

Los linfáticos iniciales parecen permitir el equilibrio de las proteínas plasmáticas entre el fluido intersticial y la linfa. Existe una pequeña fuga o pérdida de proteínas desde los conductos colectores debido a pérdidas a través de las aperturas de las uniones endoteliales. En condiciones normales hay poca

pérdida de proteínas en los ganglios linfáticos, pero puede ocurrir que aumente la pérdida de proteínas mediante exudación hacia espacios perinodales si la presión en el linfático eferente es mayor de 8 mm de Hg.

La mayoría de las proteínas de la linfa proceden de las proteínas del plasma, que se incorporan a dicho fluido por filtración, difusión y transporte vesicular. La linfa contiene todas las fracciones de proteínas del plasma pero a una concentración inferior y con un mayor porcentaje de proteínas de bajo peso molecular. Una pequeña contribución de las proteínas linfáticas puede derivar de las proteínas sintetizadas en los tejidos. Existe una alta concentración de inmunoglobulina G en la linfa del intestino delgado que deriva de la absorción de la misma ingerida. La concentración de proteínas de la linfa del hígado es menor que la encontrada en el suero de la sangre venosa del hígado, lo que sugiere que la proteína sintetizada nuevamente es liberada en la circulación sanguínea antes que en la linfa.

Los lípidos de la linfa y del plasma son triglicéridos, fosfolípidos, esteres de colesterol, ácidos grasos y colesterol libre. Las concentraciones de lípidos cambian considerablemente tras las comidas. El contenido de lípidos de la linfa intestinal y hepática es mucho mayor que en otras regiones. Los ratios de lípidos son similares para la mayoría de los órganos, pero son mayores en la linfa intestinal y hepática.

Las enzimas normalmente presentes en el plasma están también presentes en la linfa, pero generalmente en concentraciones inferiores. La actividad de una enzima en la linfa refleja la del plasma, pero también depende de la presión de los capilares, la microestructura del capilar, el tamaño molecular de la enzima o la tasa del flujo linfático del tejido en particular. Otras sustancias que también son transportadas en la linfa, pero en menor concentración, son las hormonas y los factores de la coagulación.

La mayoría de las células en la linfa humana periférica son linfocitos (aproximadamente el 50% son linfocitos T, 10% linfocitos B, 6% fagocitos, 9% neutrófilos, 0,2% eosinófilos y 15% eritrocitos).

2.2.5. Limpieza de partículas extrañas

La captación de partículas extrañas de tamaño coloidal, en la cual se fundamenta la técnica a estudio en este trabajo, ocurre a través de dos vías: a través del endotelio mediante vesículas endoteliales y a través de las uniones intercelulares. Tras una inyección de dichas partículas en el espacio intradérmico, la transferencia de partículas a través del endotelio linfático ocurre en pocos segundos. Las partículas coloidales pueden verse entre las fisuras intercelulares los primeros minutos tras dicha inyección.

La linfa de la mayoría de los tejidos pasa a través de uno o más ganglios linfáticos en su camino desde el espacio intersticial hasta el torrente circulatorio. El ganglio linfático filtra la linfa y extrae las partículas antigénicas y las células viejas mediante fagocitosis. Cuando las partículas de tamaño coloidal se inyectan intramuscularmente viajan rápidamente a través de los canales linfáticos como partículas libres hasta llegar a los ganglios regionales. En los ganglios son fagocitadas y almacenadas por los macrófagos. Una pequeña proporción de estas partículas son fagocitadas por las células endoteliales de los linfáticos. La filtración de la linfa en las estaciones ganglionares puede estar influenciada por varios factores. La radioterapia, por ejemplo, puede disminuir marcadamente la capacidad de filtración de los ganglios por fibrosis nodal y perinodal. Algunos quimioterápicos como el fluorouracilo (pero no el metotrexate) pueden disminuir la filtración ganglionar de la linfa.

2.3. INTRODUCCIÓN AL CONCEPTO DE GANGLIO CENTINELA

La comprensión de la anatomía y fisiología del sistema linfático es importante para entender los fundamentos en los que se basa el mapeo linfático y la técnica de la biopsia del ganglio centinela. Como se ha visto, el sistema linfático es una red de canales que drenan fluidos y proteínas desde el intersticio de los órganos y tejidos humanos y la transportan hacia los ganglios linfáticos: los agentes utilizados para el mapeo linfático regional y localización del ganglio centinela siguen las mismas vías.

Ganglio centinela

Es el primer o los primeros ganglios linfáticos que reciben la linfa directamente desde el lugar donde asienta el tumor original, y por lo tanto, el primero o los primeros en recoger las células tumorales diseminadas por esta vía.

Ganglio secundario o no centinela

Todos aquéllos que reciben la circulación linfática a través de un ganglio centinela.

Biopsia del ganglio centinela

La biopsia del ganglio centinela es una técnica quirúrgica mínimamente invasiva que consiste en la localización, extirpación y análisis del ganglio centinela con fines diagnósticos y pronósticos fundamentalmente.

El tipo de biopsia utilizado en esta técnica es escisional, también conocida como exéresis: es decir, consiste en la extirpación completa de un determinado órgano, tumor o estructura, que se realiza normalmente en el quirófano bajo anestesia general o local y con cirugía mayor o menor respectivamente. Por lo tanto la biopsia del ganglio centinela no consiste en tomar una muestra del ganglio sino en extirparlo por completo.

Hasta el desarrollo del concepto del ganglio centinela se pensaba que la diseminación tumoral linfática era un proceso aleatorio, pero la técnica objeto de estudio del presente trabajo nació basándose en la teoría de que dicho

fenómeno es ordenado y predecible. Esta hipótesis defiende que las células tumorales se diseminan de forma organizada, por lo que la afectación de los ganglios regionales no es aleatoria sino que, al contrario, se rige por un orden mecánico determinado por el flujo linfático entre el tumor y su primera estación ganglionar (Fig.13). Como se verá más adelante, para realizar esta técnica es preciso marcar el ganglio con algún método que permita identificarlo durante la intervención y una vez analizado, aportará la información necesaria sobre el estado de los ganglios regionales.

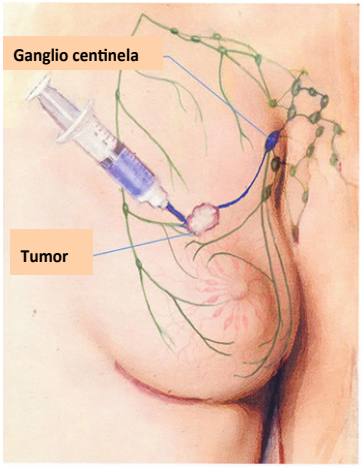

Figura 13. Diagrama que representa el principio en el cual se basa la técnica.

De esta forma se intuye que el valor clínico de la biopsia del ganglio centinela radica en reservar la linfadenectomía completa únicamente para aquellos casos en que se requiera un control local de la enfermedad por presentar metástasis ganglionares. Si la técnica resulta negativa porque el ganglio centinela se encuentra libre de afectación metastásica, se puede afirmar con cierta seguridad, que el resto de la cadena ganglionar también lo estará, lo que hace innecesario desde el punto de vista diagnóstico y terapéutico la realización de una linfadenectomía regional completa.

El factor pronóstico más importante para los pacientes con neoplasias sólidas es el estado metastásico de los ganglios regionales que drenan la linfa desde el tumor primario. Hasta hace poco tiempo, la única forma de identificar las metástasis linfáticas era la linfadenectomía y el examen anatomopatológico de cada ganglio mediante la tinción con hematoxilina - eosina. Sin embargo esta técnica subestima la verdadera frecuencia de metástasis ganglionares, porque

estudia un pequeño porcentaje del volumen total del ganglio, y usa además un método de tinción que no tiene la sensibilidad deseada.

Sin embargo, los pacientes con estadios iniciales de tumores que reciben beneficio con la linfadenectomía son pocos; la mayoría de este tipo de pacientes se expone a la morbilidad derivada de la linfadenectomía sin recibir ningún beneficio. Esta fue la razón que llevó a los investigadores a buscar alternativas que permitieran evitar la linfadenectomía en casos innecesarios.

En el manejo terapéutico del cáncer de mama, la palpación axilar había constituido durante muchos años el principal método de valoración preoperatorio del estado ganglionar. Sin embargo, la concordancia entre la estadificación clínica y el estudio histológico de la linfadenectomía axilar (Fig.14) era baja.

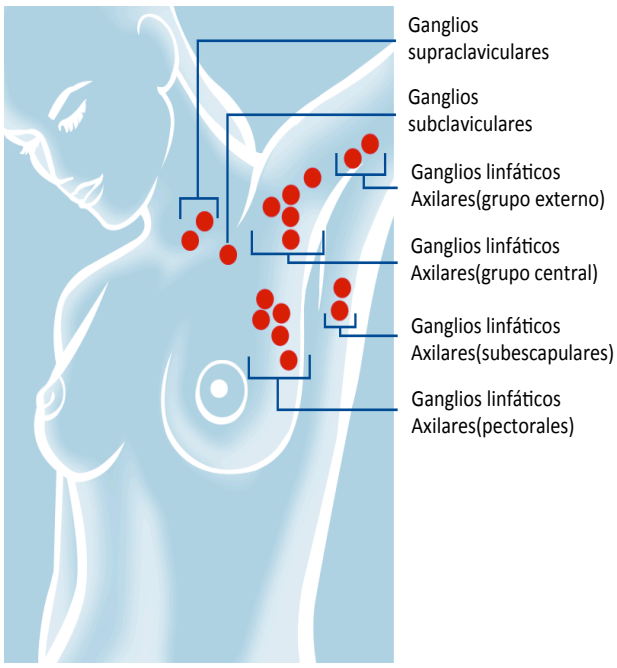

Figura 14. Diagrama que muestra la división didáctica de los distintos grupos de ganglios linfáticos de la mama. La linfadenectomía axilar supone, por tanto, la extirpación de un importante número de ganglios no exenta de morbilidad.

Muchos pacientes con adenopatías palpables no presentaban afectación metastásica ganglionar, mientras otros que aparentemente estaban libres de enfermedad en la exploración clínica tenían afectación ganglionar en el estudio

histológico. Esta discordancia justificaba que la linfadenectomía axilar, fuera el único método válido para el conocimiento del estado ganglionar axilar, ya que no había aparecido ninguna otra técnica capaz de reemplazarla.

2.4. DESARROLLO HISTÓRICO DE LA TÉCNICA

La verdadera formulación de la hipótesis del ganglio centinela, tuvo lugar en 1977, con la aparición del trabajo realizado por Ramón Cabanas, médico residente de Urología del Memorial Sloan Kettering Cancer Center de Nueva Cork (Cabanas 1977). En el estudio, se incluyeron 80 pacientes con cáncer de pene, a los cuales se les realizó preoperatoriamente una linfografía mediante la canalización de los ganglios linfáticos dorsales de dicho órgano. Con esta técnica, Cabanas consiguió demostrar la existencia de un nódulo linfático específico al que denominó ganglio centinela (Cabanas 1977). El autor lo localizó radiográfica y anatómicamente siempre en el mismo lugar (con pequeñas variaciones), cerca de la vena epigástrica superficial, y describió con detalle la técnica quirúrgica para biopsiarlo, aunque no utilizó ningún marcador específico en la localización intraoperatoria del mismo.

La mayor aportación de Cabanas fue la verdadera formulación de la hipótesis del ganglio centinela tal y como la conocemos hoy en día: "*el ganglio centinela parece ser el sitio al que primero llegan las metástasis desde el carcinoma de pene, y puede ser el único afectado*". Cabanas fue el primero en recomendar la biopsia del ganglio centinela como paso previo a la linfadenectomía regional, y en sugerir que cuando el ganglio centinela se encuentra libre de enfermedad no es necesaria ninguna otra intervención quirúrgica de forma inmediata.

En 1992 aparecieron los primeros trabajos de Donald Morton, del grupo de Sta. Mónica (CA, EE.UU.), aplicando los descubrimientos de Cabanas en el melanoma cutáneo (Cochran et al. 1992; Morton et al. 1992). El estudio se llevó a cabo en una serie consecutiva de 223 pacientes con melanoma, que se sometieron a una inyección intradérmica de colorante como paso previo a la cirugía. En todos ellos se llevó a cabo la biopsia del ganglio centinela siguiendo

los canales linfáticos teñidos de azul hasta localizar el primer ganglio de drenaje, y se completó el procedimiento con la linfadenectomía regional.

Las novedades que este trabajo aportaron al campo del mapeo linfático fueron importantes. La primera de ellas fue la utilización de una técnica específica de localización intraoperatoria del ganglio centinela (usando un colorante en este caso), por lo que la biopsia de dicho ganglio se comenzó a realizar de forma dirigida, y no "*a ciegas*" como en el caso de Cabanas. Otra de las aportaciones fue el estudio anatomopatológico intraoperatorio del ganglio mediante secciones congeladas y teñidas tanto para hematoxilina-eosina, como para citoqueratinas. La comparación con el análisis diferido de cortes permanentes tan sólo mostró un 6% de casos en los que se detectó afectación tumoral que había pasado desapercibida en el estudio intraoperatorio, y la concordancia entre ambos estudios fue del 96%. En el artículo también se hacía hincapié en el hecho de que existía una curva de aprendizaje, y en que se requería una experiencia considerable para realizar la técnica con destreza, dado que sus dos falsos negativos habían ocurrido en los primeros casos realizados y se debían probablemente a que el colorante había atravesado el ganglio centinela concentrándose en un ganglio secundario, también llamado ganglio no centinela.

El terreno adecuado para el desarrollo de la biopsia del ganglio centinela era sin duda el melanoma cutáneo. La aplicación de esta técnica consiguió llenar el hueco existente entre las dos posibilidades terapéuticas disponibles en aquel momento para el tratamiento quirúrgico de los melanomas en estadio I. La más agresiva consistía en realizar una linfadenectomía regional completa, y la más conservadora defendía "*esperar y ver*", y realizar la linfadenectomía sólo si aparecían adenopatías en el seguimiento. De hecho, Morton concluyó su artículo afirmando que "*la biopsia del ganglio centinela era una alternativa razonable a las dos posibilidades descritas*", por lo que la técnica se difundió con gran rapidez y muchas instituciones comenzaron a publicar sus experiencias.

Sin embargo, en el cáncer de mama la situación era totalmente distinta. La linfadenectomía axilar completa siempre había formado parte del tratamiento quirúrgico, ya que el factor pronóstico más importante en pacientes con cáncer de mama era y sigue siendo, el estado de los ganglios axilares, y no existe ningún procedimiento no invasivo que sea capaz de determinarlo. Por dicho motivo, la biopsia del ganglio centinela en el cáncer de mama se abrió paso más lentamente que en el melanoma. Los primeros años se publicaron múltiples estudios de validación, que consistían en realizar la biopsia del ganglio centinela seguida de la linfadenectomía axilar correspondiente con la intención de comparar los resultados. Lo que buscaban todos los grupos era lo mismo: determinar si el estado del ganglio centinela podía predecir con exactitud el del resto de los ganglios axilares, y adquirir la experiencia necesaria antes de abandonar la linfadenectomía axilar completa.

En 1993, apareció el primer trabajo sobre la aplicación de la biopsia del ganglio centinela en el cáncer de mama (Krag et al. 1993). David Krag, un cirujano del Medical Center Hospital de Vermont (Burlington), había descrito el desarrollo de una nueva técnica para la biopsia del ganglio centinela, que se basaba en la utilización de radiotrazadores y en la localización intraoperatoria de dicho ganglio mediante una sonda de detección de radiaciones gamma. Es de sobra conocido el uso de radiotrazadores en la práctica médica diaria como parte fundamental de los procedimientos realizados por el médico nuclear. Estos compuestos están formados por un fármaco marcado con un isótopo radiactivo, que se administra por distintas vías y que una vez dentro del organismo se distribuye por los diversos órganos y sistemas. La emisión de radiación desde los lugares en los que se ha distribuido el radiotrazador se puede detectar con una gammacámara, que procesa la información y genera una imagen (gammagrafía), o con una sonda, que transforma la radiactividad detectada en una señal acústica.

Krag había probado dicha técnica usando radiotrazadores en 8 gatos comparándola a su vez con el uso de distintos colorantes (Alex and Krag 1993). Sus resultados le llevaron a afirmar que el uso de radiotrazadores era comparable al de colorantes, y que la sonda de detección además presentaba

varias ventajas: i) permitía localizar con exactitud el punto de piel suprayacente al ganglio centinela, ii) podía guiar al cirujano intraoperatoriamente hacia dicho ganglio, iii) permitía verificar que se había extirpado el verdadero centinela, iv) determinaba la posible presencia de ganglios residuales y v) permitía realizar la extracción a través de una incisión de menor tamaño que si se utilizaban colorantes.

Tras desarrollar la técnica en los felinos, aparecieron otros dos trabajos suyos aplicando la biopsia del ganglio centinela a 11 pacientes con melanoma cutáneo (Alex et al. 1993), y exponiendo su experiencia en una serie de 22 pacientes diagnosticadas de cáncer de mama (Krag et al. 1993). La aportación más importante de este último trabajo, como se ha dicho, fue que la localización del ganglio centinela se realizaba por primera vez utilizando un radiotrazador y una sonda de detección que lo localizaba durante la intervención. Al tratarse de un estudio de validación, una vez biopsiado el ganglio centinela, se realizó la linfadenectomía axilar completa en todas las pacientes. Los resultados fueron prometedores: el porcentaje de identificación del ganglio centinela superó el 80% y no había aparecido ningún falso negativo. Es de destacar que en el estudio se incluyeron pacientes con biopsias escisionales previas, y que no se realizó un análisis anatomopatológico intraoperatorio del ganglio centinela ni estudio de inmunohistoquímica. Krag terminó su artículo concluyendo que "*los resultados de su estudio piloto justificaban la realización de ensayos clínicos randomizados con más pacientes con el objetivo de confirmar o refutar los mismos*".

La segunda publicación sobre la biopsia del ganglio centinela en el cáncer de mama apareció un año más tarde, en Septiembre de 1994, firmada por Armando Giuliano y Donald Morton, ambos del John Wayne Cancer Institute de Santa Mónica (Giuliano et al. 1994). Se trataba de la modificación de la técnica que había desarrollado Morton dos años antes en el melanoma cutáneo, para aplicarla en el cáncer de mama, y era la primera serie larga de pacientes que se publicaba como estudio de validación (n = 174), es decir, con linfadenectomía axilar completa en todos los casos. Como era de esperar, teniendo a Morton entre los autores, Giuliano sólo utilizó colorantes, y la

inyección fue peritumoral o intracavitaria en el caso de pacientes con biopsias previas de la mama. Durante la intervención se realizaba una incisión axilar con la consiguiente disección de los planos correspondientes hasta encontrar tractos linfáticos o ganglios teñidos de azul.

Quizá debido a la complejidad de la técnica quirúrgica, el autor dio mucha importancia a la existencia de una curva de aprendizaje, hasta tal punto que analizó los resultados en función del número de orden en el que fueron realizados los procedimientos. Así por ejemplo, en las primeras 87 pacientes el porcentaje de identificación del ganglio centinela fue tan sólo del 58,6%, que aumentó hasta el 72,4% en las últimas 87, y hasta el 78,0% en las últimas 50 (Giuliano et al. 1994). Esta división hacía difícil la comprensión de los datos, pero lo que quedaba claro era que no superaba los resultados de Krag con el uso de radiotrazadores. Además aparecieron cinco casos en los cuales el ganglio centinela estaba libre de enfermedad pero había metástasis en algún otro ganglio axilar (falsos negativos). No obstante, como explicará Roumen tres años más tarde (Roumen et al. 1997), el porcentaje de falsos negativos estaba mal calculado, ya que Giuliano lo había referido al total de procedimientos, cuando lo correcto es colocar en el denominador el número de casos verdaderamente positivos que se han encontrado. De esta forma, el 4.3% que describe llegaría a alcanzar el 13.7%, que supone más del triple de lo que figura en el artículo (Roumen et al. 1997). Es importante resaltar que, al igual que en el melanoma, en este estudio se utilizaron técnicas de inmunohistoquímica para el análisis del ganglio centinela, aunque sólo para la reevaluación de los falsos negativos.

La repercusión de este trabajo fue grande desde el punto de vista científico, y en ello quizá influyeran varios hechos; en primer lugar se trataba de la primera serie larga de pacientes que aparecía en la literatura, además Giuliano había contado con el apoyo del prestigioso Morton, y por último el artículo había aparecido en una revista con un índice de impacto seis veces superior al de la publicación que hiciera Krag un año antes. Por todo esto, la discusión científica que se generó con otros investigadores fue bastante amplia, y muchos de ellos coincidieron en señalar varios aspectos controvertidos: ¿cómo aumentar el

porcentaje de identificación del ganglio centinela? ¿Podría la gammagrafía y el uso de radiotrazadores aportar beneficio a esta técnica al igual que lo había demostrado con el melanoma? ¿Podría aplicarse la técnica anatomopatológica de análisis intraoperatorio de secciones congeladas?

Precisamente esta última cuestión la abordó Giuliano en su siguiente trabajo, que se publicó un año más tarde (Giuliano et al. 1995). En dicho trabajo, desarrolló la aplicación de la técnica anatomopatológica intraoperatoria utilizada por Morton para el melanoma, comparando la incidencia de metástasis y micrometástasis en la biopsia del ganglio centinela con la de la linfadenectomía axilar completa. Los ganglios centinelas se analizaron exhaustivamente, y se utilizaron técnicas de inmunohistoquímica, mientras que el resto de ganglios axilares se analizaron con el estudio tradicional de hematoxilina-eosina. Los resultados de este estudio supusieron un gran avance en la comprensión de la dinámica de la diseminación metastásica y del estadiaje del cáncer de mama, ya que se descubrió que la incidencia de micrometástasis detectadas en los ganglios centinelas era considerablemente mayor (38.2%) a la observada en el resto de los ganglios axilares (10.3%), con un alto nivel de significación estadística ($p < 0.0005$). Por lo tanto, después de este trabajo de Giuliano, la comunidad científica empezó a aceptar que la biopsia selectiva del ganglio centinela no sólo parecía ser una técnica útil en el estadiaje de las pacientes con cáncer de mama, sino que además podría superar la eficacia del *gold standard* aceptado hasta el momento, que era la linfadenectomía axilar completa.

El primer trabajo que combinó dos técnicas de marcaje, radiotrazador y colorante, lo publicó en 1997 J. Albertini, del Lee Moffit Cancer Center (Tampa, Florida). Basándose en la experiencia de Krag y de Giuliano, diseñó un método combinado para la detección del ganglio centinela: sulfuro coloidal filtrado marcado con ^{99m}Tecnecio y colorante azul de isosulfán al 1%, ambos inyectados en la región peritumoral (Albertini et al. 1996). La eficacia de la técnica llegó a alcanzar el 91,9%, y el porcentaje de identificación del ganglio centinela superó con creces lo publicado hasta la fecha, siendo del 95%; por lo que el autor concluyó que la técnica combinada aumentaba la eficacia y la

precisión del procedimiento. En esta serie de pacientes no se detectó ningún falso negativo, y el autor lo atribuyó a que no se incluían casos que presentaran biopsia previa de la lesión mamaria, sugiriendo que en ese tipo de pacientes se podría ver alterado el drenaje linfático y resultar en un falso negativo.

También en 1996 se publicaron los primeros trabajos de los grupos europeos. En una revista de escasa difusión aparecieron dos artículos de dos centros holandeses en páginas consecutivas (Meijer et al. 1996; Nieweg et al. 1996). Ambos trabajos son series cortas de pacientes, estructurados como estudios de validación, pero con la diferencia de que se localizó el ganglio centinela en la pieza de la linfadenectomía y no *in vivo.* Nieweg, siguiendo los pasos de Armando Giuliano, realizó su estudio con inyección intratumoral de colorante (Azul Patente, en este caso) (Nieweg et al. 1996), mientras que el otro, grupo formado por Pijpers y Meijer siguiendo a Krag y a Albertini, utilizaron radiotrazadores administrados en la periferia del tumor (Meijer et al. 1996), pero a diferencia de estos últimos no inyectaron sulfuro, sino albúmina coloidal marcada con ^{99m}Tecnecio. En ambas series el porcentaje de identificación del ganglio centinela superó el 90%, y en ningún caso aparecieron falsos negativos.

Ese mismo año, *The Lancet* publicó la experiencia europea más amplia que había hasta la fecha. El grupo de Milán, encabezado por Umberto Veronesi, aportó sus resultados en 163 pacientes incluidas en un estudio de validación (Veronesi et al. 1997). Sólo se utilizaron radiotrazadores, y apareció por primera vez la vía de administración subdérmica en la piel suprayacente a la lesión mamaria. El porcentaje de identificación del ganglio centinela con este tipo de inyección resultó ser el mayor documentado hasta el momento (98,2%), y los autores se basaron en ello para defender la superioridad del método con radiotrazadores frente al uso de colorantes, señalando que estos últimos no eran necesarios. Aparecieron cuatro falsos negativos, que representaron el 2,5% de todos los casos, y el 5,4% de las pacientes con ganglios negativos. Sin embargo, en ningún momento lo refirieron al total de pacientes con ganglios positivos, que es la forma correcta de expresar el porcentaje de falsos negativos, y que para esta serie en concreto sería del 4,7%. Dos de estos

cuatro casos eran carcinomas multifocales, lo que llevó a los autores a concluir que la multifocalidad podría ser una causa de falsos negativos, por lo que decidieron desaconsejar la biopsia del ganglio centinela en pacientes con estas características.

Otro de los temas al que hacía referencia este trabajo era al análisis anatomopatológico del ganglio centinela. En los primeros 56 casos se analizó dicho ganglio de manera diferida y con la tinción habitual de hematoxilina-eosina. En las últimas 107 pacientes, se decidió enviar el ganglio centinela en fresco para hacer el estudio intraoperatorio de secciones congeladas. Sin embargo, en el 17% de los casos el diagnóstico intraoperatorio fue falsamente negativo, ya que se encontraron focos de micrometástasis en el estudio diferido que habían pasado desapercibidas durante la intervención. Por eso, los autores concluyeron que debía buscarse un método intraoperatorio adecuado para determinar la afectación del ganglio centinela, ya que dependiendo de dicho resultado se realizaría o no la linfadenectomía axilar.

Este trabajo de Veronesi no solo fue pionero en la introducción de la inyección subdérmica, sino que además fue el primero en proponer la biopsia del ganglio centinela para la correcta estadificación de las pacientes que se fueran a someter a quimioterapia neoadyuvante antes de la intervención. Sin embargo, la decisión más criticada, y la que marcaría la revolución en el tratamiento quirúrgico del cáncer de mama hasta nuestros días, sería la de comenzar inmediatamente la aplicación de la técnica en pacientes con tumores menores de 1,5 cm dejando la linfadenectomía axilar a expensas de la afectación o no del ganglio centinela.

Otro grupo holandés, liderado por Roumen, publicó meses más tarde un estudio de validación en el que participaron 83 pacientes utilizando radiotrazadores con inyección peritumoral (Roumen et al. 1997). Los resultados fueron alentadores: porcentaje de identificación del ganglio centinela: 79.5%, sensibilidad: 96.0%, porcentaje de falsos negativos: 0.4%. Uno de los aspectos novedosos de su trabajo fueron los dos casos en los que se evidenció un drenaje exclusivo a la cadena mamaria interna, sin visualización por tanto de

ganglios centinelas en la región axilar. Este hecho les llevó a concluir que la linfogammagrafía previa a la intervención podría ser de extraordinaria importancia para el manejo quirúrgico de las pacientes, ya que podría aportar una valiosa información sobre los drenajes a localizaciones inesperadas.

En este trabajo también se hacía una revisión bibliográfica de lo publicado hasta ese momento sobre la biopsia del ganglio centinela en el cáncer de mama. Roumen describía con claridad que no tiene sentido hablar de especificidad ni de valor predictivo positivo de la técnica, ya que estas variables por definición serán siempre del 100%, puesto que el estado del ganglio centinela y de la axila son variables dependientes. Además, fue el primer autor en defender que el número de falsos negativos detectados en los estudios de validación deberían compararse sólo con los casos de afectación metastásica axilar, y que es ése el verdadero valor de la sensibilidad. De esta forma, corregiría a Giuliano afirmando que la sensibilidad de la técnica en sus pacientes era tan sólo del 88% (Giuliano et al. 1995).

Pero las consecuencias de la revisión literaria llevada a cabo por Roumen fueron aún más importantes: se hizo evidente la diversidad de procedimientos empleados en los distintos centros, lo que llevó al autor a preguntarse cuál sería la técnica que tendría mayor porcentaje de identificación del ganglio centinela con el menor índice de falsos negativos. Para contestar a dicha pregunta analizó las variables que creía que podían influir en la eficacia de la técnica: el tamaño del radiotrazador, el lugar de la inyección, el volumen administrado, el tiempo que debe transcurrir entre la inyección y la intervención, y la utilidad de las imágenes dinámicas en la linfogammagrafía.

A pesar de que se había generalizado el uso de radiotrazadores, Giuliano siguió utilizando el colorante (Giuliano et al. 1997). En Junio de 1997 publicó sus resultados en 107 pacientes. Así pudo concluir que en sus manos, la técnica tenía un porcentaje de identificación del ganglio centinela que alcanzaba el 93.5%, con una sensibilidad del 100%, no apareciendo ningún falso negativo. Una de las novedades que describió fue la estandarización del estudio anatomopatológico del/los ganglio/s centinela/s: análisis de secciones

congeladas intraoperatorio, además de tinción con hematoxilina-eosina e inmunohistoquímica. Lo más novedoso sin duda fue que ateniendo a sus resultados, y al igual que había hecho el grupo de Milán, Giuliano decidió abandonar la linfadenectomía axilar en aquellas pacientes que presentaran el ganglio centinela libre de enfermedad.

En 1998 apareció la validación del grupo holandés de Meijer, con 130 pacientes entre las cuales se incluían algunas con biopsias escisionales previas (Borgstein et al. 1998). Para ello, habían empleado una inyección peritumoral de nanocoloides marcados con ^{99m}Tecnecio el día antes de la intervención, seguida de una linfogammagrafía precoz y tardía y de la localización intraoperatoria con sonda gamma. El porcentaje de identificación gammagráfico, es decir, de drenaje del ganglio centinela, fue del 89%, y apareció un único falso negativo, que frente a los 44 casos de pacientes con afectación axilar resultó en un 2,3% y no un 1,7% como refieren los autores en el artículo.

Lo más interesante de este trabajo fueron las recomendaciones sobre la realización de la técnica y los hallazgos basados en la experiencia de los propios autores. De esta forma, y al igual que lo hiciera Albertini, aparecían alusiones a drenajes no axilares desde el lugar de inyección, ya que en determinados casos habían encontrado ganglios centinelas en la cadena mamaria interna o en la región paraesternal así como supra e infraclaviculares. Siguiendo a David Krag, expusieron la superioridad de la utilización de radiotrazadores frente al colorante, afirmando que la búsqueda del ganglio centinela guiada por una sonda de detección gamma era mucho más eficiente y fácil de aprender que la disección exhaustiva requerida cuando se usaban colorantes aisladamente. Además, como ya hemos comentado, el uso de trazadores radiactivos permitía verificar la extracción del verdadero ganglio centinela mediante la medición de la radiactividad residual una vez extirpado el mismo, y la linfogammagrafía obtenida aportaba información adicional sobre drenajes extra axilares, lo que no ocurría con el colorante.

Al final de este trabajo, los autores hacían una serie de recomendaciones para la realización de esta técnica, abordando cuestiones como el tamaño de la partícula inyectada, el volumen administrado y el lugar de inyección. También hacían referencia a los factores mecánicos que podían afectar el drenaje linfático: cicatrices locales, hematomas en el trayecto de drenaje, infiltración masiva de los ganglios linfáticos (Borgstein et al. 1998). Respecto a la aplicación de la técnica en pacientes con biopsia escisional previa, defendían que dicho antecedente podía disminuir la tasa de detección del ganglio centinela, pero que sin embargo no aumentaría el riesgo de falsos negativos y por lo tanto no debería ser una contraindicación para la realización de este tipo de procedimiento.

En marzo de ese mismo año aparecieron dos estudios muy similares de dos grupos americanos. Se trataba del liderado por Barnwell de la Universidad de Nueva York en Buffalo (Barnwell et al. 1998) y por Rosen, del Memorial Sloan-Ketering Cancer Center de Nueva Cork (O'Hea et al. 1998). Ambos grupos realizaron la técnica utilizando a la vez colorante y radiotrazador, y obtuvieron resultados similares, con una identificación del ganglio centinela mayor del 90%. La diferencia estribaba en que el grupo del Memorial encontró un porcentaje de falsos negativos del 17,6%, que la atribuyeron principalmente a la curva de aprendizaje, y que les llevó a ampliar la serie de pacientes estudiadas y a publicar sus resultados al año siguiente en una población más amplia (Hill et al. 1999).

Otro de los autores que se animó a hacer recomendaciones sobre la realización de la técnica fue Charles Cox, que las publicó en 1998 en *Annals of Surgery.* Para ello, se basó en su amplia experiencia, ya que en el estudio entraron a formar parte 466 mujeres, y era por lo tanto, la serie más larga publicada hasta el momento (Cox et al. 1998). Los resultados fueron muy buenos, ya que la identificación del ganglio centinela alcanzó el 94.4% de los casos, y tan sólo encontraron un falso negativo, que finalmente supuso un 0.9%. Las recomendaciones que realizó este autor van desde la necesidad de realizar una linfadenectomía axilar en los casos en los que existe fallo en la detección del ganglio centinela o éste es positivo, hasta que es preciso realizar

un periodo de validación, con un entrenamiento y una curva de aprendizaje apropiada. También abordó temas como la radioprotección, la realización de protocolos de actuación o el seguimiento de las pacientes que se han sometido a dicha técnica.

En 1998 vio la luz el primer estudio de validación multicéntrico, que había sido encabezado por David Krag, y en el que entraron a formar parte 11 instituciones diferentes (Krag et al. 1998). La eficacia de la técnica se acercó en este caso al 94%, y aparecieron 13 casos de falsos negativos, todos ellos con tumores localizados en cuadrantes externos (12,8%). Los autores concluyeron que los fallos en la detección del ganglio centinela en su serie de pacientes se debía a varios factores: pacientes que habían sufrido una biopsia escisional previa, aquellas cuya edad superaba los 50 años, y las que presentaban el tumor en los cuadrantes internos, ya que según ellos, hacía falta más volumen para forzar el drenaje hasta las estaciones ganglionares de la axila. El drenaje a la cadena mamaria interna ocurrió en el 4,3% de los casos.

Un año más tarde, en 1999, Veronesi también expuso su experiencia en una serie larga de 376 pacientes (Veronesi et al. 1999). Su estudio mostró la mayor eficacia técnica publicada hasta la fecha: 98,7%. Pero sin duda, una de las mayores aportaciones de este trabajo fue el nuevo método de análisis intraoperatorio del ganglio centinela, que permitió bajar la tasa de falsos negativos al 6,7%. Los buenos resultados de este trabajo llevaron a los autores a proponer la realización de un ensayo clínico randomizado en pacientes sometidas a biopsia del ganglio centinela frente al tratamiento estándar de la linfadenectomía axilar, con el objetivo de determinar si la nueva técnica era realmente eficaz. Este ensayo se publicaría años más tarde y marcaría un hito en la implantación de la biopsia del ganglio centinela en la práctica clínica diaria, y en el manejo quirúrgico del cáncer de mama (Veronesi et al. 2003).

En este escenario surgió la idea del presente trabajo. La necesidad de adecuar el tratamiento conservador de la axila en las pacientes diagnosticadas de cáncer de mama, hacía preciso el diseño de un estudio de aplicabilidad de la técnica de la biopsia del ganglio centinela en nuestro medio y la

implementación práctica de esta nueva opción quirúrgica, con la finalidad de ir abandonando progresivamente el vaciamiento axilar, que clásicamente había acompañado a la tumorectomía o a la mastectomía, como método de estadificación.

2.5. ETAPAS EN LA INVESTIGACIÓN DE LA TÉCNICA DE LA BIOPSIA DEL GANGLIO CENTINELA

Desde el punto de vista cronológico, se describen diferentes etapas en la investigación de la biopsia del ganglio centinela en las enfermas con cáncer de mama.

- Primera etapa: Perfeccionamiento técnico

Durante el periodo que va desde el año 1992 a 1996, se analizaron diferentes métodos de marcaje del ganglio centinela con la intención de perfeccionar la técnica, y se describió la utilización de radiotrazadores, colorantes y la combinación de los mismos.

- Segunda etapa: Validación técnica

La segunda etapa (1995-2001) generó la mayoría de la literatura científica sobre la técnica de la que disponemos en la actualidad, y en ella se publicaron los estudios de validación de los principales grupos investigadores, en los cuales se comparaban los resultados histológicos de la linfadenectomía axilar frente a la biopsia del ganglio centinela. Los estudios de validación se basan todos en el mismo principio. Su objetivo es comprobar que la teoría del ganglio centinela es válida, es decir, que la ausencia de afectación metastásica del mismo permite afirmar que el resto de la cadena ganglionar se encuentra indemne. Para ello, todos los estudios diseñados de esta manera realizan la biopsia del ganglio centinela y la linfadenectomía axilar y comparan los resultados histológicos de ambas.

También durante esta etapa se describieron las aplicaciones de la técnica en situaciones clínicas especiales (carcinomas *in situ*, quimioterapia

neoadyuvante, carcinoma localmente avanzado, etc.) y se realizaron numerosas revisiones no sistemáticas.

- Tercera etapa: Estudios multivariantes

La experiencia acumulada en los principales grupos de investigación ha posibilitado la existencia de una tercera etapa. Desde el año 2000 hasta la actualidad, se han realizado análisis estadísticos para resolver algunas cuestiones relacionadas con la práctica clínica, entre las cuales ha destacado la identificación del perfil de paciente con riesgo de falso negativo, o los criterios de baja probabilidad de afectación en otros ganglios centinelas.

- Cuarta etapa: Ensayos clínicos

Finalmente, la cuarta etapa en el estudio de la biopsia del ganglio centinela también se inició en el año 2000, con la puesta en marcha de varios ensayos clínicos que tratarían de analizar el impacto de la técnica en los periodos libres de enfermedad y supervivencia.

Sin embargo, si algo ha caracterizado desde el principio el desarrollo e implantación de la biopsia del ganglio centinela en pacientes con cáncer de mama, ha sido sin duda la heterogeneidad en el diseño de los estudios llevados a cabo en cada uno de los centros. La falta de unanimidad en los criterios de inclusión y, especialmente, la ausencia de randomización, no ha permitido en la mayoría de los casos obtener recomendaciones con un adecuado nivel de evidencia científica. Por otro lado, los estudios de revisión publicados se corresponden con revisiones bibliográficas en donde únicamente se recogen datos generales correspondientes a la identificación del ganglio centinela y su concordancia con el estado histológico de la linfadenectomía. No existe por lo tanto una valoración cualitativa de cada experiencia quirúrgica, ni de la metodología llevada a cabo en el estudio, que permita solventar la gran heterogeneidad de los artículos, y que afecta no sólo a la elección de las pacientes, sino a la propia técnica de marcaje. De esta forma, se evidencian discrepancias muy notorias que se intentan resolver continuamente en una sucesión de reuniones consenso, y de actualizaciones de los mismos (Bernet et al. 2010).

A pesar de estas limitaciones, los artículos de validación publicados coinciden siempre en el estudio de dos variables para la valoración de la técnica de la biopsia del ganglio centinela: la eficacia técnica y la incidencia de falsos negativos.

2.6. VARIABLES ANALIZADAS EN LOS ESTUDIOS SOBRE LA BIOPSIA DEL GANGLIO CENTINELA

2.6.1. Número de ganglios centinelas

Como ya se ha visto el ganglio centinela se define como el primer o los primeros ganglios en recibir el drenaje linfático directamente desde el lecho tumoral. Sin embargo, el concepto original del ganglio centinela ha sido en ocasiones fuente de confusión. En 1992, Morton lo definió como el ganglio linfático inicial al que drena el tumor primario, es decir, el que se encuentra en la vía de drenaje directa desde dicho lugar (Cochran et al. 1992).

El problema es que algunos investigadores han hecho distintas interpretaciones de esta definición. Por un lado, existen grupos, pertenecientes sobre todo al ámbito de la Medicina Nuclear, que han introducido modificaciones en este concepto haciéndolo más complejo, ya que consideran como ganglio centinela al primero que se hace visible en la gammagrafía. Hay algo de verdad en esta definición, pues el primer ganglio que aparece en la linfogammagrafía es un ganglio centinela, pero es demasiado estricta, pues puede haber más de uno y no verse al mismo tiempo. De hecho, está demostrado que a veces existen 2 conductos linfáticos que drenan la linfa desde el tumor primario y que alcanzan dos ganglios distintos. Debido a la existencia de un flujo preferencial, uno de ellos puede aparecer primero, pero eso no significa que sólo el primero sea el ganglio centinela, ya que las células tumorales pueden viajar por cualquier conducto hasta alojarse en uno o en ambos. Incluso en ocasiones pueden existir más de dos ganglios centinelas, por lo que como hemos dicho, este

concepto es demasiado estricto, y si no se extraen y se examinan los demás ganglios pueden pasar desapercibidas algunas metástasis.

Por otro lado, hay investigadores que consideran como ganglio centinela a cualquier ganglio teñido de colorante o que capte el radiotrazador. Estos grupos no tienen en cuenta que parte del colorante o del radiotrazador puede atravesar el ganglio centinela, pasar más allá y alcanzar ganglios no centinela, también conocidos como ganglios secundarios. Por lo tanto, y al contrario que la anterior, esta definición es demasiado amplia, pues incluiría a los ganglios secundarios visibles como ganglios centinelas y habría que extraer muchos ganglios innecesarios.

2.6.2. Porcentaje de identificación del ganglio centinela o eficacia técnica

Esta variable, como su nombre indica, se refiere a la proporción de pacientes en los que se identifica el ganglio centinela (GC) respecto al total de pacientes estudiados:

Id. GC = *pacientes con GC identificado y extirpados / total de pacientes*

En los estudios en los que se realiza el marcaje con colorante, la identificación del ganglio centinela tiene lugar exclusivamente durante la intervención, mediante la localización y extracción de los ganglios teñidos. Cuando se utilizan radiotrazadores, como se verá más adelante, se cuenta con la posibilidad de obtener imágenes prequirúrgicas mediante la realización de una gammagrafía. Dichas imágenes muestran el número y la localización del/los ganglios centinelas y permiten realizar marcas en la piel suprayacente a los mismos. Como consecuencia, en los estudios realizados con gammagrafía prequirúrgica, se puede hablar de dos porcentajes de identificación del GC distintos:

Id. prequirúrgica GC = *pacientes con GC visibles en la gammagrafía / total*

Id. quirúrgica del GC = *pacientes con GC visible y extirpado / total*

En la práctica totalidad de los estudios publicados, estos porcentajes suelen coincidir, y los raros casos en los que no lo hacen es por una de estas dos posibilidades: en la gammagrafía se observa uno o varios ganglios que finalmente no se localizan durante la cirugía, o al contrario, a pesar de no evidenciar drenaje ganglionar en las imágenes, es posible la extracción del ganglio centinela con la ayuda de la sonda de detección de radiación gamma.

Sin embargo, es más frecuente expresar los resultados de los trabajos publicados en otro término, conocido como "*eficacia técnica*", a pesar de que es lo mismo que el porcentaje de identificación del ganglio centinela. La eficacia técnica (ET) de la biopsia del ganglio centinela se relaciona con la capacidad del equipo para identificar y extraer el verdadero ganglio centinela, es decir, se refiere al éxito del procedimiento. Para ello, es necesario un marcaje correcto del ganglio centinela y una adecuada identificación y extracción del mismo.

Al revisar la literatura se observa que la eficacia técnica varía mucho según los autores y la metodología empleada, y ha sido esta variabilidad y heterogeneidad metodológica la que ha acrecentado el interés por los factores que inciden en el éxito del procedimiento, para así identificar el grupo con mayor eficacia técnica. Se verá más adelante que la experiencia del equipo, la metodología del marcaje y las características clínicas de la paciente son factores que influyen en la eficacia técnica.

2.6.3. Sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la prueba

La validación de la biopsia del ganglio centinela en el cáncer de mama precisa un criterio de referencia que permita dilucidar si la técnica puede predecir el estado histológico de los ganglios regionales. Durante la fase de validación, dicho patrón será la linfadenectomía axilar, permitiendo por una parte el

oportuno tratamiento oncológico de la enferma, y por otra, una adecuada comparación entre el resultado anatomopatológico del ganglio centinela y del resto de ganglios resecados durante la linfadenectomía axilar. De esta comparación resultarán las siguientes posibilidades observadas en la Tabla 7.

Tabla 7. Posibles resultados al aplicar la técnica de la biopsia del ganglio centinela. LA (+): linfadenectomía axilar positiva, LA (-): linfadenectomía axilar negativa, GC (+): ganglio centinela con afectación metastásica, GC (-) ganglio centinela libre de enferemedad.

	LA (+)	LA (-)
GC (+)	Verdadero positivo (VP)	
GC (-)	Falso negativo (FN)	Verdadero negativo (VN)

- Verdadero positivo: cuando exista invasión metastásica del ganglio centinela, pudiendo ser éste el único afectado o existir otros ganglios infiltrados en la linfadenectomía, GC (+).
- Verdadero negativo: cuando no exista afectación ni del ganglio centinela ni de ningún otro de los ganglios resecados en la linfadenectomía axilar, GC (+) LA (-).
- Falso negativo: cuando exista infiltración en uno o más ganglios de la linfadenectomía, en ausencia de afectación neoplásica del ganglio centinela, GC (-) LA (+).
- Falso positivo: por definición no existen falsos positivos puesto que la afectación neoplásica del ganglio centinela hace positivo el estado ganglionar de la axila ya que, tal y como explica Roumen, ambas son variables dependientes (Roumen et al. 1997).

Aplicando el teorema de Bayes, a través del diseño de tablas de contingencia es posible calcular los valores de sensibilidad, especificidad y los valores predictivos positivos tal y como vemos en la Tabla 8.

Como se ha comentado, y atendiendo al hecho de que las variables estudiadas son dependientes y que la afectación del ganglio centinela supone admitir que existe afectación ganglionar, aunque sea la única estación afectada, se llega a la conclusión de que no existen falsos positivos, y que la especificidad de la

técnica es siempre del 100%, ya que si el ganglio centinela forma parte de la cadena ganglionar, es un contrasentido afirmar que no existe afectación ganglionar aunque dicho ganglio sea el único afectado.

Tabla 8. Cálculo de los valores de sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la biopsia del ganglio centinela según la aplicación del teorema de Bayes. GC: ganglio centinela, LA: linfadenectomía axilar, (+) con afectación metastásica, (-) libre de enfermedad, VP: verdadero positivo, VN: verdadero negativo, FN: falso negativo, FP: falso positivo, VPP: valor predictivo positivo, VPN: valor predictivo negativo.

Sensibilidad	= VP/ VP + FN	Todos los GC (+) / todos los GC (+) + GC(-)LA(+)
Especificidad	= VN / VN + (FP=0)	GC (-) LA (-) / GC (-) LA (-)
VPP	= VP / VP + (FP=0)	Todos los GC (+) / todos los GC (+)
VPN	= VN/ VN + FN	GC (-) LA(-) / GC (-) LA(-) + GC (-) LA (+)

Los valores predictivos responden a la pregunta de cómo de probable es que la enfermedad esté presente (VPP) o ausente (VPN) en función de los resultados de un test. Así, un test con un VPN del 95% indicará que si la prueba es negativa existe un 95% de posibilidades de que la paciente no presente la enfermedad. Por el mismo motivo anteriormente comentado, podría parecer que no tiene sentido calcular la probabilidad de que exista afectación metastásica axilar cuando el ganglio centinela es positivo, ya que su afectación cataloga por sí misma al paciente como "*positivo para afectación ganglionar".*

2.6.4. Incidencia de falsos negativos

Como se acaba de definir, un falso negativo es aquel caso en el que no existe afectación del ganglio centinela y sí de alguno de los demás ganglios extirpados en la linfadenectomía. En la literatura se le denomina muchas veces como "*tasa de falsos negativos",* pero este nombre no es del todo apropiado, ya que las tasas por definición deben incluir el tiempo en su denominador, y no es el caso de esta variable.

También hubo confusión al principio sobre cual era la manera correcta de calcular la incidencia de falsos negativos. Los primeros trabajos publicados los referían al total de procedimientos realizados, cuando lo correcto es poner en el denominador el número de pacientes con afectación metastásica.

De esta manera, la forma correcta de calcularlo viene dada por la siguiente expresión:

Incidencia de falsos negativos = *GC (-) LA (+) / Total de LA (+)*

Como se verá más adelante, la incidencia de falsos negativos (IFN) depende de los mismos factores que la eficacia técnica (ET).

2.6.5 Exactitud de la técnica

También conocida como "*overall accuracy*", o lo que es lo mismo "*capacidad de predicción de afectación regional*". Es una variable que se refiere a la exactitud de la prueba aplicada, es decir, al porcentaje de casos en los que la prueba predice exactamente el estado de los ganglios regionales.

Exactitud técnica*. = VP+ VN / Pacientes es los que se identificó el GC*

De esta expresión se deduce que la exactitud de la técnica dependerá fundamentalmente de la incidencia de falsos negativos, ya que al no existir falsos positivos el único valor que puede afectar la exactitud de la técnica son los falsos negativos encontrados. Es decir, que cuando en un estudio no aparecen falsos negativos la exactitud diagnóstica es del 100%.

2.7 METODOLOGÍA DESARROLLADA PARA LA BIOPSIA DEL GANGLIO CENTINELA

Ya se ha visto que para la realización de la biopsia del ganglio centinela hace falta marcar dicho ganglio con algún método que permita su identificación

durante el acto quirúrgico. Una vez extirpado y analizado, éste aportará la información suficiente para determinar si existe o no afectación ganglionar, y si es necesario ampliar el tratamiento con una linfadenectomía regional.

Sin embargo, como ya se ha visto, hay una gran variabilidad en la metodología empleada para el marcaje del ganglio centinela, lo que dificulta la comparación entre los estudios de diversos grupos, ya que las diferencias en la realización del procedimiento pueden influir en la eficacia técnica y en la detección de falsos negativos.

Las principales variaciones en la metodología del marcaje se refieren al tipo de trazador utilizado, a la localización de la inyección, y a las características del paciente sometido al procedimiento.

2.7.1. Marcaje con colorantes

Teniendo en cuenta el concepto de ganglio centinela, es evidente que se precisa de algún sistema fiable para la detección del mismo *in vivo*, que permita distinguirlo del resto de los ganglios regionales y que facilite su biopsia.

La base de este sistema es la utilización de colorantes específicos capaces de reproducir el drenaje linfático de cada paciente. Los trazadores linfáticos precisan cumplir determinadas características fisicoquímicas y farmacocinéticas: deben ser apolares y poco hidrosolubles. El primer trazador utilizado lo utilizó Morton en pacientes con melanoma, y se trataba de un colorante quirúrgico denominado comercialmente Lymphazurin® (Isosulfán Blue Vital Dye. Lymphazurín 1%. Hirsch Industries. Richmond. VA. EEUU) (Fig.15). Siguiendo los pasos de Morton, los americanos realizan la tinción del ganglio centinela generalmente con este colorante (Morton et al. 1992). Sin embargo, los grupos europeos, australianos y japoneses han utilizado el azul patente (Patent Blue V Dye. 2,5% solution. Laboratoire Guerbet. Aulnay-sous-Bois. France) y existen otras experiencias aisladas con el uso del índigo carmín (Imoto et al. 2000).

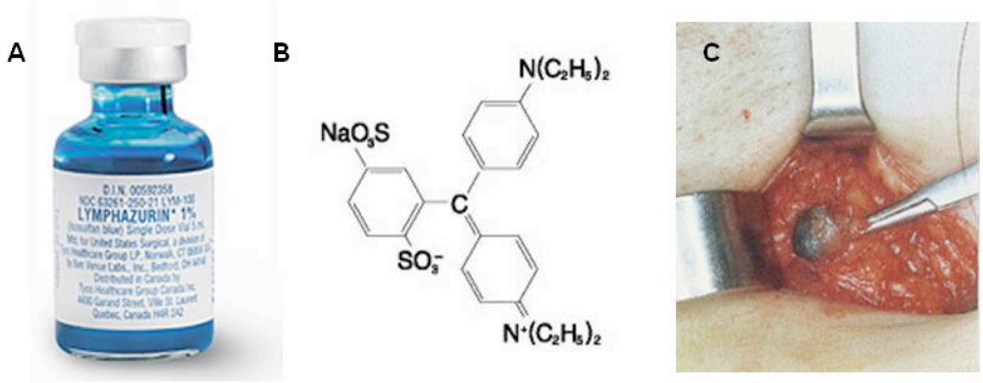

Figura 15. La imagen muestra el aspecto del Lymphazurin®, colorante utilizado generalmente para marcar el ganglio centinela (A), así como su formulación química (B). Se muestra igualmente el aspecto de un ganglio centinela teñido con el colorante (C).

No todos los colorantes utilizados en cirugía son apropiados, ya que muchos de ellos no presentan una difusión adecuada por vía linfática, como por ejemplo el Azul de Metileno. Además, la utilización de colorantes para el marcaje del ganglio centinela presenta ciertas peculiaridades clínicas en su utilización que deben ser conocidas:

- *Alergia y anafilaxis*. Se han descrito reacciones anafilácticas al azul patente y al isosulfán durante la práctica de la biopsia del ganglio centinela (Albo et al. 2001; Mullan et al. 2001). El azul patente es un colorante que se ha utilizado en la industria textil, papelera y agrícola desde hace varias décadas y por ello se estima que existe una sensibilización al producto en el 2,7% de la población. Aunque se desconoce el mecanismo, se sospecha la presencia de IgE en enfermas sensibilizadas previamente con el producto, bien en el contexto doméstico (prendas, cosméticos) o médico (linfografía previa con azul patente). Los síntomas se inician a los 15-30 minutos tras la inyección y van desde una reacción alérgica leve (urticaria, eritema) hasta formas severas de anafilaxia (edema pulmonar, hipotensión, shock), sin que hasta el momento se hayan reconocido fallecimientos por esta

complicación. Se ha estimado que el 1.5% de las enfermas intervenidas por cáncer de mama son alérgicas a esta sustancia, lo que obliga a una profilaxis en enfermas con antecedentes alérgicos. Además, la presencia de estas reacciones alérgicas no se relaciona estadísticamente con el volumen de colorante inyectado, con los antecedentes de alergia a otras sustancias ni con la administración simultánea de antibióticos. Por lo tanto, las recomendaciones básicas para la utilización de colorantes consisten en la monitorización de la paciente durante su inoculación (al menos una vía periférica), evitando realizarla en aquellos escenarios donde no puedan realizarse de forma correcta y segura las maniobras de resucitación cardiopulmonar.

- *Desaturación perioperatoria*. Una vez que el colorante alcanza los conductos linfáticos, parte del mismo circula por el sistema venoso provocando en algunas pacientes una tonalidad azulada en la piel durante el tiempo quirúrgico. Esta coloración cianótica puede dificultar la medición del pulsioxímetro y, de esta forma, producir una lectura errónea de la saturación similar a un evento hipóxico transitorio. A pesar de que el fenómeno es autolimitado por el aclaramiento renal del colorante, se recomienda al anestesiólogo la utilización de métodos alternativos para la valoración de la presión parcial de oxígeno.

- *Coloración cutánea y tatuaje*. La tinción cutánea se manifiesta durante las primeras 2-3 semanas del postoperatorio para remitir paulatinamente. Es infrecuente la aparición de tatuaje.

- *Linfangitis química.* La inyección subcutánea de colorante provoca en algunas mujeres la aparición de una linfangitis por irritación química, un proceso autolimitado que cede en 24-48 horas.

- *Coloración de la orina*. El 10% del colorante inyectado será eliminado por la orina durante las primeras 24 horas, provocando la aparición de una coloración azul verdosa durante la micción.

Sin embargo, la limitación más importante del marcaje con colorante es la necesidad de una disección axilar relativamente amplia para poder visualizar los linfáticos y ganglios teñidos, y la imposibilidad de identificar un ganglio centinela en una localización extra-axilar. Esta característica justifica que algunos ganglios centinelas pasen inadvertidos al cirujano durante el acto quirúrgico, y posteriormente sean identificados por el patólogo en el estudio histológico de la grasa axilar.

De todas formas, la experiencia acumulada hasta el momento demuestra que la eficacia técnica en la biopsia del ganglio centinela, que se describe como el porcentaje de pacientes en los que se detecta y extrae efectivamente el mismo respecto del total de pacientes estudiados, no alcanza niveles óptimos si se usan colorantes de manera aislada, especialmente si se comparan con la utilización combinada o no, de trazadores isotópicos, al menos para una mayoría de autores (Albertini et al. 1996; Cox et al. 1998). En general, la eficacia técnica que se consigue con los colorantes vitales ronda el 85%, aunque grupos como el de Giuliano publican cifras que mejoran tras un largo y difícil periodo de aprendizaje (Giuliano et al. 1994; Giuliano et al. 1997).

2.7.2. Marcaje con isótopos

Alex y Krag introdujeron en 1993 la utilización de trazadores isotópicos para la biopsia del ganglio centinela. Estos ya se utilizaban previamente en Medicina Nuclear con otras indicaciones, especialmente para investigar la dinámica de la circulación linfática en extremidades inferiores. Se trata de sustancias de tamaño coloidal (10nm – 10μm), cuyas partículas son neutras y biológicamente inertes. Los coloides están marcados con tecnecio-99m (^{99m}Tc), que forma el núcleo del compuesto. Alrededor del núcleo se dispone una capa de dipolos de moléculas de agua, de manera que la configuración final se asemeja a una esfera en la que las densidades de carga eléctrica quedan compensadas (Alex and Krag 1993).

Para la biopsia del ganglio centinela puede contemplarse el uso de varios tipos de coloide marcado con ^{99m}Tc, cuyas diferencias de comportamiento biológico en humanos radican fundamentalmente en el tamaño de la partícula (Valdes Olmos et al. 1999). Hay que tener en cuenta que, para cada coloide, no existe un diámetro constante de la partícula, sino que se observa un rango o dispersión de diámetros alrededor de un valor medio. Ello ha dado lugar al sistema de filtración de algunos de estos productos, como es el caso del sulfuro coloidal, con la finalidad de seleccionar las partículas más pequeñas, procedimiento que ha sido adoptado por algún grupo de trabajo, sobre todo en Estados Unidos, ya que el sulfuro coloidal marcado con ^{99m}Tc es el único radiofármaco aprobado con esta indicación por la Food and Drug Administration (Albertini et al. 1996).

En la actualidad podemos optar por distintos compuestos. Por ejemplo, tenemos un grupo o familia de pequeños nanocoloides, con diámetros entre 2 y 20 nm, que incluye los compuestos tecneciados de seroalbúmina humana (HSA), dextrano o trisulfuro de amonio, los cuales muestran *in vivo* una gran capacidad de difusión, con visualización rápida de canales venosos y linfáticos, y aparición de numerosos ganglios de drenaje, no sólo del primario. El trisulfuro de antimonio es utilizado sobre todo por grupos de Australia (Uren et al. 1995).

En segundo lugar, existe otro grupo de coloides de tamaño intermedio, entre 5 y 80 nanómetros, que incluye los nanocoloides de albúmina, el sulfuro de renio y el sulfuro de tecnecio estabilizado con gelatina, que muestran menor penetración sistémica y buena delimitación de los ganglios de drenaje. Estos radiotrazadores son más utilizados en Europa (Jimenez et al. 2008).

Y en tercer lugar, el último grupo de radiotrazadores son coloides con un tamaño de 100 a 400 nanómetros, utilizado por varios grupos de trabajo en Estados Unidos (Krag et al. 1998; Linehan et al. 1999), o la albúmina microcoloidal marcada con ^{99m}Tc, con un tamaño que excede los 1000 nanómetros y que ha sido propuesta por el grupo de Milán. Con estas partículas se suelen observar menos ganglios de drenaje y, por tanto, se puede ser más selectivo a la hora de detectar el ganglio centinela y evitar la disección

de ganglios secundarios. Sin embargo, la desventaja es que con este tipo de radiotrazadores existe la posibilidad de que queden retenidos en el lugar de inyección debido a la rápida fagocitosis, y que no drenen hacia el/los ganglios centinelas (Winchester et al. 1999).

Cualquier grupo que desee iniciarse en la biopsia del ganglio centinela tendrá que optar técnicamente no sólo por utilizar o no colorantes quirúrgicos, sino también por alguno de estos tipos de radiotrazador. En la práctica, esta opción se traducirá en elegir entre dos opciones: la primera sería tratar de identificar los vasos aferentes y numerosos ganglios de drenaje usando coloides de pequeño tamaño, en cuyo caso será casi obligado practicar detecciones linfogammagráficas dinámicas y/o precoces y utilizar colorantes como apoyo operatorio.

La segunda opción sería usar partículas de mayor tamaño y aceptar un cierto riesgo de no migración, a cambio de ser más selectivos, y por tanto de facilitar la imagen gammagráfica y el rastreo intraoperatorio del verdadero ganglio centinela. En última instancia, serán los resultados prácticos que se obtengan en cada centro, en términos de eficacia técnica, sensibilidad y valores predictivos, los que realmente validen la opción práctica que se haya tomado inicialmente. Esta elección, por otro lado, estará condicionada por los medios técnicos, humanos y operativos de que se disponga en cada caso.

Hay que tener en cuenta que los trazadores coloideos de que disponemos en estos momentos no fueron diseñados específicamente para localizar el ganglio centinela, y por lo tanto, quizás no exista ninguno perfecto. Es más que probable que, en el futuro, la investigación radiofarmacológica obtenga coloides optimizados para esta indicación, que cumplan requisitos exigentes tales como difundir rápida y eficazmente por el sistema linfático hasta un solo ganglio centinela, sin la elevada retención tisular en el punto de inyección que observamos en los preparados actuales (fig.16), consiguiéndose así una relación señal ganglio centinela/fondo muy alta, sin presencia de ganglios secundarios marcados.

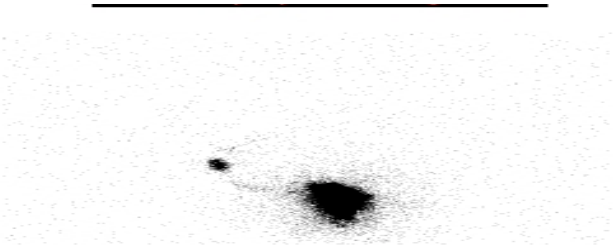

Figura 16. Gammagrafía de la mama y la axila.
El foco de mayor tamaño corresponde a la inyección subareolar del trazador en la mama izquierda, y el de menores dimensiones al ganglio centinela localizado en la axila ipsilateral. Se puede intuir el canal linfático entre ambos focos.

La principal ventaja del marcaje con radiotrazadores frente al uso de colorantes es que los isótopos permiten al cirujano determinar con exactitud la localización del ganglio centinela previamente al acto quirúrgico, ya que a través de la piel se puede identificar la posición exacta de dicho ganglio antes de la incisión permitiendo una disección mínima de la axila. Además, la realización de una gammagrafía tras la administración del isótopo permite identificar el ganglio centinela en localizaciones extra-axilares.

Estas características son las que hacen que la técnica isotópica sea en la actualidad el método básico para el marcaje del ganglio centinela y que sea de obligada realización para cualquier grupo que desee validar la técnica. Las desventajas del método isotópico se relacionan con su mayor complejidad organizativa, al precisar de un servicio de Medicina Nuclear que efectúe el marcaje y de una sonda de detección de radiación gamma para la identificación intraoperatoria del ganglio centinela. En el contexto de la práctica clínica está descrita una posible limitación de la técnica con el uso de radiotrazadores en los casos en que las lesiones están localizadas en el cuadrante superoexterno y cola de la mama y se use inyección intra o peritumotral, ya que puede superponerse la emisión de radiactividad desde el lugar en el que se inyecta la dosis con la del propio ganglio centinela, lo que se conoce como fenómeno "*shine through*".

2.7.3. Localización de la inyección

La biopsia del ganglio centinela en el cáncer de mama es una aplicación de la técnica desarrollada por Morton para el melanoma en 1992 (Morton et al. 1992). A eso se debe que los primeros trabajos publicados utilizaran la misma inyección que se empleaba para los casos de melanoma, es decir, de localización peritumoral. Con el paso de los años, y basándose en el hecho de que la glándula mamaria es un órgano distinto a la piel, se buscaron vías alternativas de administración, descritas por diferentes autores:

- Inyección intratumoral. Se trata de la técnica más cercana al concepto mecanicista del ganglio centinela, ya que intenta realizar el marcaje en el lugar exacto del tumor primario. El grupo de Doting publicó sus resultados con la inyección intratumoral de radioisótopo en 136 enfermas, alcanzando una eficacia técnica del 92%, similar a los estudios realizados con otros tipos de inyección (Doting et al. 2000). Las limitaciones de este tipo de inyección residen en que en tumores no palpables es preciso localizar la lesión con otras técnicas de imagen, además de que se suele evidenciar un retraso en la migración del trazador hacia el ganglio centinela, debido a que el radiotrazador precisa atravesar el tumor hasta los linfáticos adyacentes.

- Inyección peritumoral. Se trata de la técnica más antigua y la utilizada con mayor frecuencia, además de ser la más *"fisiológica*", ya que los canales linfáticos situados alrededor del tumor son los que recogerán las células malignas en su migración hacia el ganglio centinela. Este mismo concepto ha sido aplicado en aquellas enfermas con biopsia mamaria previa en las cuales el marcador se ha inyectado adyacente a la escisión o en el propio lecho quirúrgico. Los primeros trabajos publicados sobre la biopsia del ganglio centinela en el cáncer de mama utilizaron la inyección peritumoral (Krag et al. 1993; Albertini et al. 1996; Giuliano et al. 1997).

- Inyección intradérmica y subdérmica. El grupo holandés de Borgstein introdujo la inyección intradérmica de colorante sobre la piel que cubre el tumor atendiendo a una premisa embriológica: la glándula mamaria y su piel circundante tienen el mismo origen embriológico, y por lo tanto, el mismo drenaje linfático (Borgstein et al. 1998).

- Inyección subareolar/periareolar. El fundamento teórico de esta técnica de inyección presupone que en la región periareolar se asienta una red linfática de la cual parten los dos principales colectores linfáticos laterales hacia la axila. Los estudios realizados por Klimberg y Kern han demostrado que la inyección periareolar en este plexo es tan eficaz como la inyección peritumoral (Kern 1999; Klimberg et al. 1999; Kern and Rosenberg 2000; Smith et al. 2000; Tuttle et al. 2002). De hecho la demostración anatómica y funcional de esta vía linfática, descrita por los anatomistas clásicos, fue evidenciada por Kern en un estudio linfogammagráfico (Kern and Rosenberg 2000), en el cual tras inyectar 1 mCi de coloide sulfurado de ^{99m}Tc, consiguió demostrar que en el 90% de las mujeres existe en ambas mamas un conducto colector linfático único que une el plexo subareolar con el ganglio centinela en la axila. Secundariamente, en el 75% de los casos, existe otro colector linfático en el mismo o en un sector adyacente al colector principal. La principal ventaja de esta vía es su sencillez técnica, especialmente en lesiones no palpables. Cuando se utiliza un marcador isotópico ofrece una ventaja añadida en aquellas lesiones que asientan en el cuadrante superoexterno o cola de Spencer, impidiendo la superposición de las imágenes correspondientes a la inyección y al ganglio centinela ("*shine through*").

2.7.4. Características inherentes al paciente

Como se ha visto, la biopsia del ganglio centinela es una técnica que ha surgido como consecuencia del cambio en la presentación clínica del cáncer de

mama. El diagnóstico temprano de la enfermedad ha permitido la identificación de tumores en las etapas iniciales, en las que hay una baja incidencia de afectación ganglionar axilar, haciendo innecesaria la linfadenectomía axilar en la mayoría de los casos. Este hecho justifica que la principal indicación de la biopsia del ganglio centinela se centre precisamente en estas enfermas, aunque existen otros grupos de pacientes que también se benefician de la técnica.

La última revisión realizada por la Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria en 2013 sugiere los siguientes criterios de inclusión para la realización de la técnica en el momento actual (Bernet et al. 2014):

- En carcinomas infiltrantes T1, T2 y T3, con axila clínica, ecográfica y patológicamente negativa (si procede realizar comprobación cito-histológica). Se trata del grupo de pacientes que con mayor frecuencia han sido incluidas en los estudios. La técnica beneficia especialmente a los pacientes con tumores menores de 10 mm (T1a-b), ya que en este subgrupo, la probabilidad de afectación axilar es mucho menor.
- En los tumores multifocales está indicada la técnica y en los multicéntricos es aceptable su realización con un nivel de evidencia IV.

- En el *carcinoma intraductal* candidato a mastectomía y en los que tengan alto riesgo de micro-infiltración o infiltración en base a alguno de los siguientes criterios:
    - Diámetro mayor de 30 mm
    - Palpable
    - Alto grado histológico
    - Comedonecrosis

- En el carcinoma de mama del varón, con las mismas indicaciones que para la mujer.

- La realización de biopsia escisional previa no contraindica por si misma la realización de la técnica.

- No existe evidencia para desaconsejar esta técnica en gestantes o puérparas, previa retirada de la lactancia 24 horas antes.

- La cirugía plástica mamaria previa de aumento o reducción tampoco contraindica la técnica.

- No existe contraindicación en caso de cirugía conservadora con biopsia del ganglio centinela previo, aunque es aconsejable la valoración individual, en función de la dosis de radiación recibida en la axila.

Atendiendo a todo lo anterior, se puede concluir, que las contraindicaciones actuales de la técnica se reducen a los siguientes casos:

- Ni antes ni después de la intervención quirúrgica en carcinomas localmente avanzados con afectación ganglionar.

- Cáncer de mama en estadio IV: la existencia de enfermedad sistémica anula cualquier interés clínico por el ganglio centinela.

- La sospecha de afectación ganglionar por imagen (ecografía) y al menos citología compatible con metástasis de carcinoma de las adenopatías sospechosas.

- En el carcinoma inflamatorio.

Consideraciones especiales:

- En pacientes con axila clínica/ecográficamente negativa de inicio (cN0), puede realizarse la técnica tanto antes como después del tratamiento sistémico primario.

- En pacientes cN1/N2 de inicio con negativización clínica y ecográfica de la axila tras neoadyuvancia (cyN0), puede realizarse la técnica después del tratamiento sistémico primario y evitar la linfadenectomía axilar cuando el ganglio centinela sea negativo. No obstante, series recientes aportan resultados controvertidos al respecto por la alta tase de falsos negativos secundarios a la terapia sistémica primaria (Lee et al. 2007; Kelly et al. 2009).

2.8. RADIOPROTECCIÓN

La legislación actual contenida en el Real Decreto 783/2001 (BOE, 2001), establece como límite de dosis efectiva 20 mSv para trabajadores profesionalmente expuestos y 1 mSv para los miembros del público. En esta última categoría se incluye a los trabajadores no profesionalmente expuestos implicados en la técnica del ganglio centinela, es decir, el cirujano, patólogo, y los demás miembros del equipo quirúrgico.

Diversos estudios realizados referentes al tema de la radioprotección en la técnica del ganglio centinela concluyen que la tasa de radiación es mínima tanto para el paciente como para el personal sanitario expuesto (Waddington et al. 2000; Law et al. 2003).

La mayor dosis la recibe el paciente, la cual se concentra en un 95% en la zona de administración, migrando hacia los linfáticos el 5% restante. En el trabajo de Waddington W. A et al, se concluye que la dosis efectiva del paciente tras la técnica del ganglio centinela (0,32 mSv) es menor a la recibida por otros procedimientos diagnósticos, como pueden ser una gammagrafía ósea (3 mSV), gammagrafía pulmonar con 99mTc (1 mSv) o un TC torácico (8 mSv). El personal de medicina nuclear no modifica apenas su tasa de exposición ocupacional. El cirujano y el anatomopatólogo concentran la dosis recibida, que es mínima, en las manos (0,09mSv). Para el resto de los miembros de la plantilla, la dosis media corporal que reciben es de 0,34 μSv, lo que representaría que para superar el límite de dosis efectiva establecido para los

miembros del público, sería necesario estudiar más de 3.000 pacientes anuales, cifra poco probable en la práctica clínica diaria.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La idea con la que surge el presente trabajo, está basada en la de lograr un tratamiento quirúrgico más conservador de la axila, al igual que se ha conseguido con el manejo de los tumores primarios de mama.

La hipótesis se basa en que el estado del ganglio centinela puede predecir la diseminación linfática regional en el cáncer de mama en estadios iniciales, y su biopsia puede evitar la linfadenectomía axilar en pacientes seleccionadas.

Además, la aplicación de la inyección subareolar para la realización de la técnica puede resultar tan útil o más que las inyecciones aprobadas hasta el momento en el que comienza este trabajo.

Según lo descrito, se plantearon para esta Tesis Doctoral los siguientes objetivos:

1. Plantear la biopsia del ganglio centinela como alternativa a la linfadenectomía axilar en pacientes con cáncer de mama.

2. Desarrollar la técnica de la biopsia del ganglio centinela con inyección subareolar, y comprobar su aplicabilidad en estadios precoces del cáncer de mama en nuestro medio.

3. Constatar las ventajas que la biopsia del ganglio centinela puede ofrecer frente a la linfadenectomía axilar: evaluar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, incidencia de falsos negativos, y la exactitud de la técnica.

4. Evaluar el porcentaje de detección gammagráfica y quirúrgica.

5. Calcular la incidencia de afectación metastásica del ganglio centinela y compararlo con el resultado de la linfadenectomía axilar.

6. Estudiar el porcentaje de pacientes que se beneficiarían de esta técnica, en el caso de ser validada.

7. Estudiar la aplicabilidad de la técnica en fase asistencial de la misma, y realizar un análisis de supervivencia a medio plazo, valorando el impacto de la aplicación de la misma en el pronóstico de la enfermedad, y haciendo especial incidencia en la valoración de recidivas axilares.

MATERIAL Y MÉTODOS

III. MATERIAL Y MÉTODOS

A continuación se describirán el material y los métodos utilizados en esta Tesis Doctoral, además de realizar una descripción general de la serie de pacientes incluida en el presente estudio.

1. SELECCIÓN DE LA POBLACIÓN

1.1. DEFINICIÓN DE LOS SUJETOS DEL ESTUDIO

Se incluyeron en el estudio a pacientes con lesiones mamarias, palpables o no, con diagnóstico histológico de confirmación de carcinoma de mama, mediante PAAF y/o BAG, que además cumplieran todos los criterios de inclusión y que no presentaran ningún criterio de exclusión (ver más adelante). En todas debía estar indicado el tratamiento quirúrgico de la lesión primaria y la linfadenectomía axilar ipsilateral como primera opción terapéutica.

1.2. PROCEDIMIENTO DE SELECCIÓN DE PACIENTES (Criterios de inclusión y de exclusión)

Entre el año 1999 y 2000, se creó el Programa de Diagnóstico Precoz de Cáncer de Mama del Servicio Canario de Salud, dependiente de la Consejería de Sanidad del Gobierno de Canarias. Es un programa dirigido a mujeres de edades comprendidas entre los 50 y los 69 años, y se extiende de forma global a unas 180.000 mujeres que se encuentran dentro de este grupo de riesgo en esta Comunidad Autónoma. Dicho programa consiste en la realización de una mamografía periódica, generalmente de forma bienal, de ambas mamas. Cuando alguna paciente presenta una lesión sospechosa de malignidad se la remite al centro sanitario especializado correspondiente, en el que se completa el estudio y se instaura el tratamiento adecuado en el caso de confirmarse un proceso tumoral.

El Servicio de Radiodiagnóstico es el que recibe las pacientes con lesiones sospechosas detectadas en el programa de screening. Tras analizar cada caso se realizan pruebas de imagen complementarias, como la ecografía, y se decide la realización de un BAG que confirme histológicamente el diagnóstico de sospecha. Una vez confirmado el diagnóstico de cáncer de mama, las pacientes son remitidas a los servicios que realizan el tratamiento quirúrgico correspondiente. En el Complejo Hospitalario Universitario Insular-Materno Infantil existen dos Servicios que realizan el tratamiento quirúrgico de las pacientes con cáncer de mama: el Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Materno Infantil, y el de Cirugía General y Digestiva del Hospital Insular.

A los citados Servicios también acuden pacientes remitidas desde las consultas ambulatorias de Ginecología o Cirugía General, tanto privadas como de la Seguridad Social, con las mismas características que las anteriores. Por lo tanto, las pacientes incluidas en la presente Tesis Doctoral fueron las remitidas de dichos servicios, y que una vez estudiadas presentaban las siguientes características:

Criterios de inclusión

- Carcinoma de mama operable confirmado histológicamente (por PAAF o BAG)
- Estadios tumorales T1 y T2 (tamaño tumoral menor de 30 mm medidos por ecografía)
- Sin evidencia clínica ni ecográfica de afectación ganglionar (N0)
- Sin evidencia de extensión sistémica (M0)
- Consentimiento informado de la paciente

Criterios de exclusión

Del mismo modo se excluyeron del estudio aquellas pacientes que presentaban alguna de las siguientes características:

- Presencia de adenopatías axilares palpables
- Carcinoma de mama multifocal o multicéntrico
- Histología de carcinoma inflamatorio
- Carcinoma localmente avanzado (tamaño tumoral mayor de 30 mm)
- Antecedente de haber recibido quimioterapia previa
- Antecedentes de cirugía o radioterapia mamaria o axilar previa
- Metástasis a distancia (M1)
- Embarazo y/o lactancia
- Denegación del consentimiento informado

Siguiendo las recomendaciones del entonces vigente Consenso de Salamanca para la biopsia del ganglio centinela en el cáncer de mama (disponible en: http://www.acircal.net/files//documentos/Ganglio Centinela y Cancer de Mama consenso Salamanca.pdf), se decidió al inicio del estudio incluir a 50 pacientes de cada uno de los servicios anteriormente citados, con el objetivo de asegurar una buena curva de aprendizaje de la técnica y conseguir la validación tanto del procedimiento, como de los médicos implicados. De esta forma, en el periodo comprendido entre Marzo de 2000 y Febrero de 2003, se reclutaron un total de 100 pacientes en las que se llevó a cabo la **fase de validación** de la técnica (biopsia del ganglio centinela y linfadenectomía axilar en todos los casos).

Una vez superada dicha fase, comenzó la segunda parte del presente estudio, denominada **fase asistencial** (biopsia del ganglio centinela y linfadenectomía solo si la anterior resultaba positiva), en el período comprendido entre Marzo de 2003 y Junio de 2006, en las cuales se reclutaron un total de 348 pacientes (seguidas hasta Enero de 2013) con los mismos criterios que los descritos en la fase de validación.

Todas las pacientes fueron informadas de su patología, así como del procedimiento diagnóstico y quirúrgico que iban a seguir. Todas ellas firmaron el consentimiento informado aprobado por el Comité de Patología Mamaria del Complejo Hospitalario Insular Materno-Infantil redactado de acuerdo a las

recomendaciones de la declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial.

2. MATERIAL Y MÉTODOS EMPLEADOS EN EL ESTUDIO

2.1. RADIOTRAZADOR

Para la realización de la biopsia del ganglio centinela se utilizó como radiotrazador la albúmina nanocoloidal marcada con ^{99m}Tc (Nanocoll®, Amersham Health S.r.l.). Al menos el 95% de las partículas de albúmina coloidal humana contenidas en una dosis tienen un tamaño menor de 80 nm.

Las propiedades farmacocinéticas de este radiotrazador le permiten realizar el estudio del drenaje linfático regional de la siguiente manera. Una vez administrada la dosis en el órgano diana, las partículas coloidales permanecen en su mayor parte en el lugar de inyección, pero un pequeño porcentaje de las mismas se filtran a través de los capilares linfáticos. El porcentaje de partículas que entra en el sistema linfático depende de muchos factores, como son el lugar de inyección (intradérmico, subdérmico, intraparenquimatoso), la velocidad del flujo linfático del órgano en estudio (más rápido en la piel), o el volumen de dosis administrada. Las partículas que abandonan el lugar de inyección a través del sistema linfático son transportadas entonces hacia los ganglios regionales y atrapadas por las células reticulares de dichos ganglios. Otra fracción de la dosis administrada es fagocitada en el lugar de inyección por los histiocitos del lugar. Y ocasionalmente otra pequeña fracción de dicha dosis puede alcanzar el torrente sanguíneo y acumularse principalmente en el sistema reticuloendotelial del hígado, bazo y médula ósea.

La forma farmacéutica en la que se presentan éstas partículas es un vial con polvo para inyección. Para realizar el marcaje del trazador con el isótopo radiactivo se precisa introducir dentro del vial entre 1 y 5 ml de solución de ^{99m}Tc pertecnetato sódico, con una radiactividad de entre 185 y 5550 MBq. Es necesario invertir cuidadosamente el vial unas cuantas veces para

homogeneizar la solución, y dejar incubar a temperatura ambiente unos 5-10 minutos. Y también es importante agitar el vial antes de extraer cada dosis.

Se realizó un adecuado control de calidad para verificar que el marcaje radiactivo había sido correcto, mediante la verificación de la pureza radioquímica 5 minutos después de haber sido realizado el marcaje. Para ello, se utilizó la cromatografía en capa fina usando como soporte papel ITLC-SG (instant thin layer chomatography – silica gel) y como fase móvil una solución de metanol-agua (85:15 v/v). Tras unos 5-10 minutos de migración del disolvente, se procedió a la lectura de la tira, desechando todos aquellos marcajes en los que la proporción de ^{99m}Tc libre superara el 5%.

2.2. TÉCNICA DE INYECCIÓN

En todos los casos, la linfogammagrafía se realizó la mañana de la intervención. Ese mismo día, sobre las 8.00 horas, se administró a todas las pacientes una inyección única en la región subareolar profunda de la mama afecta (intraparenquimatosa), de 30MBq (0,8 mCi) de nanocoloides de albúmina marcados con ^{99m}Tc (Nanocoll®), en un volumen aproximado de 2 ml. Esta inyección se realizó utilizando una aguja intramuscular (0'8mm x 40mm), y se practicó en sentido craneocaudal, con la paciente sentada en el borde de la camilla (Fig.17).

El lugar de inyección fue el mismo en todos los casos: la línea que separa la areola y la piel del resto de la mama, en la posición correspondiente a las doce horas del reloj. Se introdujo la aguja unos 2/3 de su longitud, hasta que el extremo de la misma quedara aproximadamente frente al pezón (Fig.17). Tras aspirar para comprobar que no se había pinchado ningún vaso, se procedió a la inyección del radiotrazador de forma lenta. Durante este paso se tomó la precaución de cubrir el pezón con una gasa, con la intención de evitar la contaminación en el caso de que la dosis se depositara accidentalmente el algún conducto galactóforo. Una vez finalizado el procedimiento se realizó un

masaje en el lugar de inyección con el fin de facilitar el drenaje de la solución administrada hasta las estaciones ganglionares correspondientes.

Figura 17. Realización de la inyección subareolar.

2.3. LINFOGAMMAGRAFÍA

Pasados 15-30 minutos de la inyección se introdujo a la paciente en la gammacámara (Fi.18), colocándola en decúbito supino, con el brazo ipsilateral a la mama afecta formando un ángulo de 90º con el resto del cuerpo, apoyado sobre una mesa auxiliar, con el fin de dejar libre la axila.

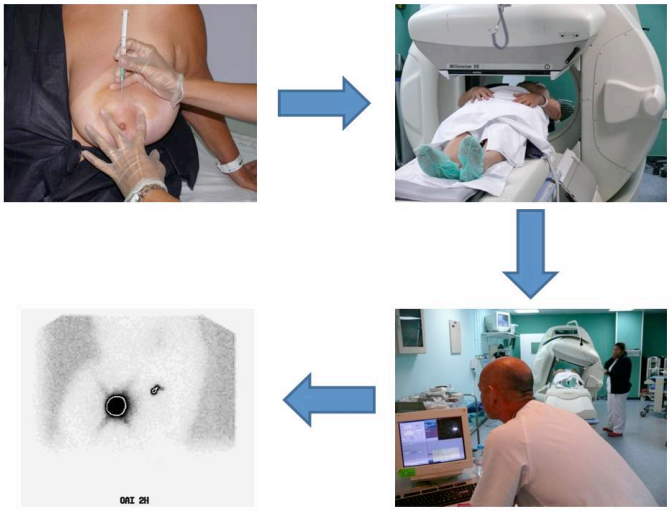

Figura 18. Inyección subareolar intraparenquimatosa única del radiotrazador (panel superior izquierdo), seguida de la obtención de imágenes gammagráficas (paneles superior derecho e inferior derecho). Se muestra también un ganglio centinela marcado con el radiotrazador, así como una señal radiactiva mayor en la areola, que es el lugar de la inyección (panel inferior izquierdo).

Se adquirieron imágenes planares en proyecciones anterior, lateral y oblicua anterior (a 30º) utilizando una gammacámara monocabezal (SPX4 de General Electrics, Colimador LEGP, Matriz 256 x 256). En las pacientes con mamas grandes o péndulas, se realizó retracción medial de dicha glándula con el fin de evitar la superposición de las imágenes de la inyección y del/los ganglios centinela(s) en la proyección oblicua anterior. Para la proyección anterior, se dejó la mama péndula, con el fin de visualizar mejor la región correspondiente a la cadena mamaria interna.

A falta de visualización de los conductos de drenaje directo, se consideró como ganglio centinela a cualquier foco de hipercaptación localizado en la región axilar ipsilateral o en cualquier cadena ganglionar regional (mamaria interna, supra e infraclavicular), así como aquellos situados en el seno de la mama, pero separados del lugar de inyección (ganglios intramamarios).

Una vez visualizado el/los ganglios correspondientes, y habiendo sido adquiridas las imágenes, se procedió al marcaje de los mismos sobre la piel. Para ello se utilizó una fuente rígida de ^{67}Co, con la que se delimitó la zona de la proyección cutánea de dichas estaciones ganglionares, y se empleó un rotulador con tinta indeleble para marcar la zona de interés (Fig.19 y 20).

Figura 19. Tras localizar el ganglio centinela se procede al marcaje de la proyección cutánea del mismo.

Figura 20. Sonda de detección gamma que traduce la radiactividad detectada en una señal acústica (panel izquierdo). Dicha sonda se utiliza antes de la intervención para comprobar que la marca realizada en la piel coincide con la señal acústica emitida desde el ganglio (panel derecho), y también durante la cirugía para localizar el ganglio centinela.

En aquellos casos en los que no se evidenció drenaje al ganglio centinela en las primeras imágenes tomadas a los 15-30 minutos tras la inyección, se continuó con el masaje en el lugar de inyección para facilitar el tránsito del radiotrazador. En estas pacientes se adquirieron imágenes tardías que nunca superaron las tres horas post-inyección, y que permitieron, en todos los casos realizar la cirugía la misma mañana de la intervención.

2.4. CIRUGÍA

Durante el acto quirúrgico, y una vez realizada la exéresis del tumor primario, se realizó el abordaje axilar en el lugar marcado con tinta.

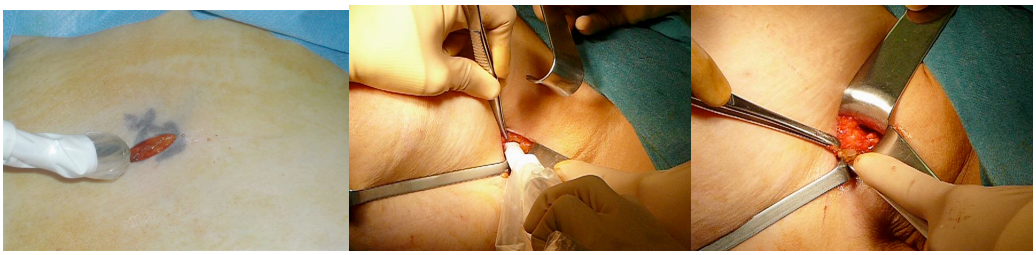

Figura 21. Detalle de la cirugía del ganglio centinela. Se puede observar la marca azul sobre la piel hecha previamente con tinta. Tras el abordaje quirúrgico de la zona, el ganglio es localizado con señal acústica usando la sonda de detección gamma.

Con la colaboración del médico nuclear se procedió a la localización y extracción del ganglio centinela. Para ello se utilizó una sonda detectora de

rayos gamma en funda estéril capaz de detectar la radiación emitida desde el ganglio centinela y transformarla en una señal acústica (Navigator Gamma Guidance System. Modelo GGS de USSC). Una vez extraído el ganglio centinela y etiquetado como tal, se completó la linfadenectomía axilar en todos los casos durante la **fase de validación** de la técnica, es decir, en la primera serie de 100 pacientes de nuestro estudio.

Durante la **fase asistencial** la intervención quirúrgica terminó tras la extracción del/los ganglios centinelas, procediendo al envío del material para su análisis anatomopatológico. En el caso de resultar positiva la biopsia del ganglio centinela, por haber encontrado enfermedad metastásica, se procedió a la realización de la linfadenectomía axilar correspondiente en un segundo tiempo, o en el mismo acto, en aquellos casos en los que por sospecha macroscópica se hubiera realizado el análisis del ganglio de forma intraoperatoria.

En este punto del estudio de la **fase asistencial** y debido a la falta de consenso internacional en aquel momento, se estableció un protocolo diferente para ambos hospitales en cuanto a la conducta a seguir en el caso de encontrar micrometástasis en el ganglio centinela. De ese modo, se decidió no realizar la linfadenectomía axilar en las pacientes del Hospital Materno Infantil, y sí hacerlo en las del Hospital Insular.

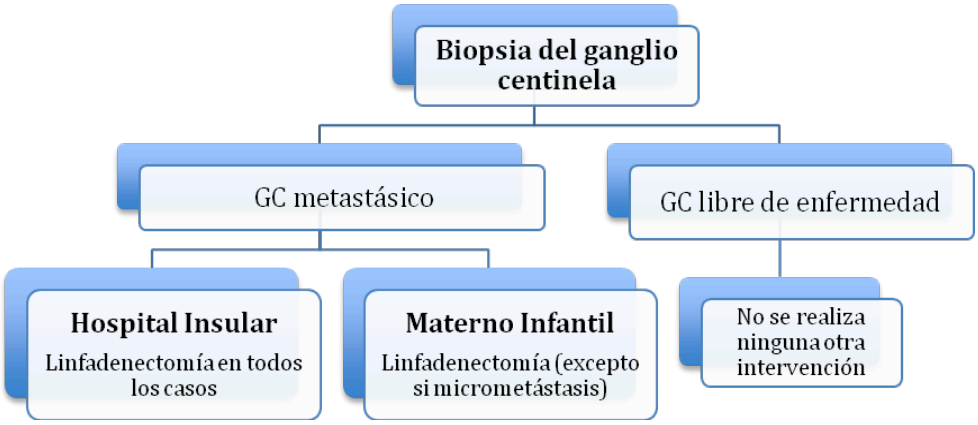

Figura 22. Protocolos en el manejo del resultado de la biopsia del ganglio centinela, según el hospital de procedencia, durante la fase asistencial de este estudio.

2.5. ANÁLISIS ANATOMOPATOLÓGICO

El análisis anatomopatológico del ganglio centinela se realizó de forma diferida, para ello se incluyó el material en parafina en su totalidad y se practicaron cortes de 2 mm de espesor, realizando dos secciones seguidas por bloque, una de ellas para tinción con hematoxilina-eosina (HE) y otra con citoqueratinas (CK).

En los casos en que ambos análisis fueron negativos, se realizaron dos secciones adicionales seguidas de HE y CK a 3-5 niveles distintos (cada nivel distante 100-200 micras del anterior).

El resto de los ganglios de la linfadenectomía se analizó con el procedimiento rutinario (es decir, realizando cortes cada 2 mm con tinción exclusiva de HE).

2.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de los datos, y a falta de la visualización de los conductos de drenaje directo, se consideró como ganglio centinela a las estaciones ganglionares capaces de concentrar el radiotrazador administrado en cantidad suficiente como para ser detectado por visión gammagráfica, y posteriormente en el quirófano con la sonda de rayos gamma.

Recordando lo que se ha descrito en el apartado de Introducción del presente trabajo, se definió como verdadero positivo aquellos casos en los que el ganglio centinela mostró afectación por metástasis tras el análisis anatomopatológico, independientemente del resultado de la linfadenectomía, ya que el ganglio centinela forma parte de la cadena axilar ganglionar y cuando está afectado se considera la linfadenectomía como positiva, aunque el resto de los ganglios esté libre de enfermedad. Se consideró verdadero negativo aquellos casos en los que el ganglio centinela estaba totalmente libre de enfermedad y el resto de la linfadenectomía también.

Los falsos negativos fueron aquellos en los que el ganglio centinela resultó ser negativo tras el análisis anatomopatológico y se encontró afectación metastásica en alguno de los ganglios del vaciamiento axilar o de los considerados como no centinelas durante la realización de biopsia del ganglio centinela. Por las características del estudio, no existen falsos positivos, ya que el drenaje linfático de la solución desde el lugar de inyección hasta la axila sólo es posible a través de los canales que confluyen en las estaciones ganglionares correspondientes, y como ya hemos dicho, un ganglio centinela metastásico obliga a considerar la linfadenectomía axilar como positiva, porque forma parte de la misma.

Se recogieron las siguientes variables de estudio para nuestra serie clínica:

Variables demográficas: Nombre y apellidos, número de historia clínica, hospital de procedencia y edad.

Variables clínicas: motivo de consulta (clínico o screening), antecedentes personales de cáncer, mama afectada (derecha, izquierda, bilateral), localización de la lesión por cuadrantes o unión de cuadrantes, fecha de diagnóstico, fecha de la cirugía, progresión de la enfermedad (sí/no), efectos adversos derivados de la intervención, número de efectos adversos, fecha de los efectos adversos.

Respecto al tumor: tamaño del tumor, tipo histológico según anatomía patológica, estadio tumoral, grado de diferenciación (I, II, III), invasión vascular (sí/no), invasión perineural (sí/no), estado de expresión del receptor de estrógenos, estado de expresión del receptor de progesterona, Her2 status, nivel de expresión de p53, proliferación celular en términos de expresión de la proteína Ki67.

Respecto a los ganglios linfáticos: ganglios centinela vistos en la gammagrafía (sí/no), número de ganglios centinela vistos en la gammagrafía, ganglios centinela extirpados (sí/no), número de ganglios centinela extirpados, ganglios centinela metastásicos (sí/no), número de ganglios centinela metastásicos,

presencia de micrometástasis (sí/no), ganglios centinela en la cadena mamaria interna (sí/no), número de ganglios centinela en la cadena mamaria interna, ganglios no centinela extirpados (sí/no), número de ganglios no centinela extirpados, ganglios no centinela metastásicos (sí/no), número de ganglios no centinela metastásicos, vaciamiento axilar (sí/no), número de ganglios totales encontrados en el vaciamiento axilar, número de ganglios metastásicos encontrados en el vaciamiento axilar.

Respecto a la supervivencia: fecha de última revisión, supervivencia libre de recaída local, fecha de supervivencia libre de recaída local, supervivencia libre de recaída regional, fecha de supervivencia libre de recaída regional, supervivencia libre de metástasis, fecha de supervivencia libre de metástasis, supervivencia libre de enfermedad, fecha de supervivencia libre de enfermedad, supervivencia causa-específica, fecha de supervivencia causa-específica, supervivencia absoluta, fecha de supervivencia absoluta.

Los análisis estadísticos en la presente Tesis Doctoral se realizaron con el programa informático *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) en su versión v.18 (IBM Corporation). Para las variables continuas, se estudió si éstas seguían una distribución normal mediante el test de *Kolmogorov-Smirnof*. La descripción de las variables continuas se realizó mediante la media, la mediana, la desviación estándar y el rango (mínimo- y máximo). Las variables categóricas se describieron mediante porcentajes de frecuencia. Se procedió, de considerarse necesario, a la dicotomización de variables categóricas para obtener mayor potencia estadística.

Las diferencias de medias entre variables continuas de distribución normal se calcularon mediante la prueba *t de student o ANOVA*, según el número de variables a comparar. Las correlaciones entre variables continuas se realizaron mediante el cálculo del coeficiente de *correlación de Pearson*. Las diferencias de distribución entre variables categóricas se hicieron mediante tablas de contingencia y cálculo de la *chi cuadrado*. Se utilizaron pruebas no paramétricas (*test de Kruskal-Wallis*) para comparar variables de distribución no normal en relación a variables categóricas.

Los análisis de supervivencia se llevaron a cabo mediante análisis de *Kaplan-Meier* y construcción de las curvas de supervivencia correspondientes. Los análisis estadísticos fueron todos de dos colas y se consideraron significativos cuando el valor de *p* fue menor de 0.05.

RESULTADOS
Y
DISCUSIÓN

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. FASE DE VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA

En el presente apartado de esta Tesis Doctoral se expone el proceso de validación de la biopsia del ganglio centinela realizada con inyección subareolar única de ^{99m}Tc-nanocoloides.

A principios de la década pasada, momento en el cual fue recolectada la presente serie de pacientes, se diagnosticaban 16.000 casos nuevos al año en nuestro país. Respecto de la mortalidad, el cáncer de mama provocó la muerte de 6.000 mujeres al año durante aquel periodo (Berrino et al. 1998), siendo la primera causa de muerte por cáncer entre las mujeres (Jimenez-Medina et al. 2003).

El hecho de que el cáncer de mama sea la neoplasia más frecuente entre las mujeres de nuestro país (Sánchez-Villegas and Martínez-González 1999; Cabanes-Domenech et al. 2009) ha favorecido la implantación de programas de detección temprana, y eso, junto con los avances diagnósticos y terapéuticos introducidos durante los últimos años, han conseguido un aumento significativo de la supervivencia, que en la actualidad se sitúa por encima del 70% a los 5 años del diagnóstico (Berrino et al. 1998; Cabanes-Domenech et al. 2009). La aplicación de estos programas de detección precoz también ha producido un aumento significativo de los casos diagnosticados en estadios iniciales, con tumores de muy pequeño tamaño en la mayoría de los casos. En estas campañas, un porcentaje muy elevado de los tumores que se detectan miden menos de 20 mm, lo que se asocia a un menor porcentaje de afectación ganglionar axilar.

En el momento en el que arranca este estudio, el manejo quirúrgico del cáncer de mama había sufrido una evolución importante (Veronesi et al. 1986; Veronesi et al. 1990b), ya que se había ido instaurando el tratamiento conservador como la opción de elección en estadios iniciales. La

linfadenectomía axilar que hasta entonces había formado parte del tratamiento quirúrgico cumplía básicamente dos objetivos: valorar la extensión de la enfermedad y establecer el pronóstico de la misma. El aumento de casos diagnosticados en estadios iniciales por la aplicación de los programas de detección precoz supuso un incremento en el número de linfadenectomías innecesarias desde el punto de vista terapéutico, ya que no se encontraban ganglios afectados en muchas de ellas. Sin embargo, la función de estadificación y pronóstico seguía siendo fundamental, ya que por una parte el tratamiento sistémico depende del estadio de la enfermedad, y por otra es bien sabido que un factor pronóstico importante es el número de ganglios axilares afectados (Zurrida et al. 1999). La técnica de la biopsia del ganglio centinela responde a dicha necesidad: adecuar el tratamiento quirúrgico de la axila a las pacientes que por haber sido diagnosticadas precozmente no presentarán afectación ganglionar.

En el momento de diseño del estudio, se discutía cuál era la mejor técnica para la localización del ganglio centinela en el cáncer de mama (Rosen et al. 1983; Veronesi et al. 1990a; Veronesi et al. 2003). Las inyecciones peritumoral e intratumoral eran las más utilizadas, y se estaba extendiendo el uso de la inyección subdérmica e incluso intradérmica. Sin embargo, pocos eran los grupos que trabajan con la administración subareolar del trazador. Este tipo de inyección ni siquiera estaba contemplada en las recomendaciones del Consenso Nacional sobre Ganglio Centinela en Cáncer de Mama de Salamanca (disponible en: http://www.acircal.net/files//documentos/Ganglio Centinela y Cancer de Mama consenso Salamanca.pdf), que en el momento del inicio de este trabajo, era el documento que marcaba las pautas a seguir en la implantación de la técnica. A pesar de ello, ese tipo de inyección fue la que se decidió usar en esta serie de pacientes.

1.1. OBJETIVO DE LA FASE DE VALIDACIÓN

El propósito de esta Tesis Doctoral, en esta primera fase del estudio, fue validar la técnica de la biopsia del ganglio centinela que realizamos en nuestro

centro con el fin de evitar linfadenectomías innecesarias, así como evaluar la eficacia y la utilidad de la inyección subareolar del radiotrazador en la localización del ganglio centinela en el cáncer de mama.

1.2. DISEÑO DEL ESTUDIO DE VALIDACIÓN

1.2.1 Sujetos

Entre mayo de 2000 y junio de 2003, se reclutaron un total de 100 pacientes diagnosticadas de cáncer de mama en estadios iniciales T1 y T2, con confirmación histológica de la enfermedad. Todas las pacientes eran mujeres con una media de edad de 58,3 años (rango: 28-80). Los criterios de inclusión para el estudio fueron los comentados anteriormente: carcinoma operable, estadio T1 y T2 (menores de 30 mm), sin evidencia clínica de afectación ganglionar ni de extensión sistémica (N0, M0). Los criterios de exclusión fueron: carcinoma de mama multifocal, carcinoma inflamatorio, quimioterapia previa, cirugía o radioterapia mamaria o axilar previa, metástasis a distancia, embarazo o lactancia.

1.2.2. Técnica

El modo de realización de la técnica fue descrita en detalle en la sección de material y métodos general de la presente Tesis Doctoral. Para evitar redundancias, se incluye en esta parte únicamente un diagrama del proceso (Fig. 23).

1.2.3. Análisis estadístico

El análisis estadístico fue descrito previamente en la parte general de Material y Métodos de esta Tesis Doctoral.

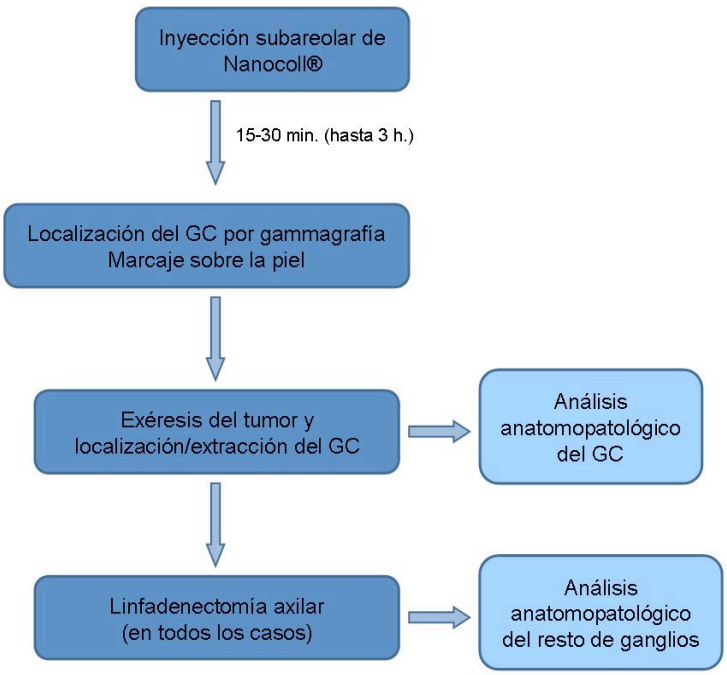

Figura 23. Diagrama que resume el flujo de trabajo general en la biopsia del ganglio centinela en la fase de validación de la técnica.

1.3. RESULTADOS

El 34% de los tumores no eran palpables, y tras el análisis anatomopatológico se comprobó que el tamaño tumoral medio fue de 19 mm. El 85% de los casos resultaron ser carcinomas ductales infiltrantes (CDI) y el resto correspondió a otros tipos tumorales.

El ganglio centinela se localizó gammagráficamente y se pudo extraer en todos los casos (Eficacia técnica prequirúrgica y quirúrgica del 100% respectivamente); se obtuvo una media de 1,95 ganglios centinelas extirpados por paciente (rango, 1-6). Los resultados obtenidos tras el análisis anatomopatológico se muestran en la Tabla 9.

De las 100 pacientes estudiadas, 44 presentaron metástasis en el ganglio centinela (verdaderos positivos). De este grupo, 15 pacientes tenían también afectación metastásica en alguno de los ganglios de la linfadenectomía axilar, y en las 29 restantes sólo estaba afectado el ganglio centinela.

De las 56 pacientes sin metástasis en el ganglio centinela, sólo 2 tenían metástasis ganglionares en el resto de la linfadenectomía axilar (falsos negativos), y las 54 restantes no presentaban afectación de ninguno de los ganglios aislados (verdaderos negativos).

Tabla 9. Relación entre ganglio centinela (GC) y la linfadenectomía

	Linfadenectomía (+)	Linfadenectomía (-)
GC (+)	15	29
GC (-)	2	54
Total	17	83

Abreviaturas. GC (+): metástasis en el GC; GC (–): GC libre de enfermedad; linfadenectomía (+): afectación metastásica de ganglios no centinelas; linfadenectomía (–): ganglios axilares no centinelas libres de enfermedad.

La sensibilidad del estudio fue del 95,65% (44/(44+2), la especificidad del 100% (54/(54+0), el VPP del 100% (44/(44+0) y el VPN del 96,4% (54/(54+2).

El ganglio centinela fue capaz de predecir el estado del resto de la axila en el 98% de los casos (Exactitud técnica), tal y como muestra la Tabla 10. Los 2 falsos negativos se presentaron al inicio de la curva de aprendizaje. Uno de ellos resultó ser un carcinoma lobulillar infiltrante de 24 mm, y el otro un carcinoma ductal infiltrante que tras el análisis anatomopatológico medía 30 mm. La incidencia de falsos negativos fue del 4,5% (2/44).

Tabla 10. Valor predictivo del ganglio centinela con respecto a la linfadenectomía

GC	Linfadenectomía (+)	Linfadenectomía (-)	Total
Predice la axila	44 (VP)	54 (VN)	98
No predice	2 (FN)	0 (FP)	2
Total	46	54	100

Abreviaturas. GC: ganglio centinela; GC (+): metástasis en el GC; GC (–): GC libre de enfermedad; linfadenectomía (+): afección metastásica de ganglios no centinelas; linfadenectomía (–): ganglios axilares no centinelas libres de enfermedad; VP: verdadero positivo; VN: verdadero negativo; FP: falso positivo; FN: falso negativo.

En la teórica situación de que la técnica hubiera estado ya validada en nuestro centro, se podía haber evitado la linfadenectomía en 54 pacientes (54%), ya

que en todos estos casos fue negativo el análisis del ganglio centinela y en el resto de los ganglios estudiados tampoco se encontró extensión de la enfermedad. En 29 pacientes el único ganglio positivo fue el ganglio centinela, y en 11 de estos 29 casos la afectación del ganglio centinela fue exclusivamente por micrometástasis.

En cuanto a las complicaciones derivadas de la linfadenectomía axilar encontramos que tuvieron lugar en 18 pacientes (18% de los casos), y que la más frecuentemente observada fue el desarrollo de un seroma axilar (n=7) y de linfedema del brazo (n=4). También se observó en un 4% de las pacientes alguna alteración en la movilidad el brazo y/o rigidez del mismo. Y por último se presentaron dos casos de linfangitis, uno de flebitis y otro de absceso axilar.

En 6 de las 100 pacientes estudiadas se puso de manifiesto en la gammagrafía la existencia de al menos 1 ganglio centinela localizado en la cadena mamaria interna (6% de drenaje a la cadena mamaria interna) (Fig. 24). En sólo 2 de estas 6 pacientes se realizó la biopsia. En ambos casos se obtuvo un resultado negativo que coincidió, además, con el observado en los ganglios centinelas axilares. En ningún caso se observó drenaje a ninguna cadena ganglionar distinta a las comentadas.

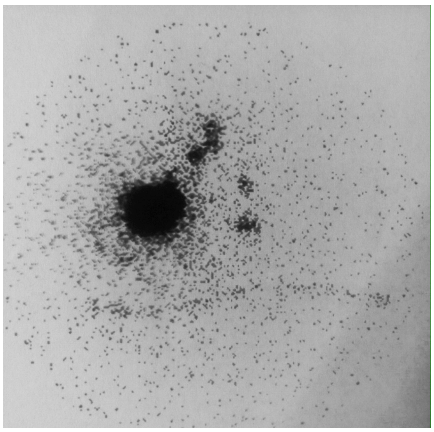

Figura 24. Drenaje a la cadena mamaria interna: linfogammagrafía de la mama derecha en proyección anterior, en la que se observa el foco de captación correspondiente a la inyección del trazador, así como drenaje a la región axilar y a la cadena mamaria interna.

1.4. DISCUSIÓN

La identificación y el estudio del ganglio centinela mediante la inyección de coloides marcados con ^{99m}Tc es una técnica útil en la estadificación del cáncer de mama en etapas iniciales, y permite obviar la linfadenectomía en los casos en los que el análisis del ganglio centinela es negativo (Consenso_de_Salamanca 2001). Además, la administración subareolar del radiotrazador es una técnica poco utilizada a pesar de que presenta múltiples ventajas respecto de otras inyecciones (Armas et al. 2005).

La ventaja fundamental de la biopsia del ganglio centinela se centra en las propias enfermas, al desaparecer las complicaciones vinculadas a la linfadenectomía (seromas, síndrome doloroso axilar, limitaciones en la movilidad del hombro, parestesias, linfedema). Además, al ser una técnica mínimamente invasiva, posibilita el tratamiento ambulatorio de estas pacientes, y disminuye el tiempo quirúrgico y las cargas asistenciales, ya que requiere mínimos cuidados postoperatorios.

El principal inconveniente de la biopsia del ganglio centinela es la presencia de falsos negativos. Para la mayoría de los autores, se trata de una complicación propia de la curva de aprendizaje cuya incidencia es mínima una vez que el equipo ha adquirido la experiencia suficiente en el manejo de la técnica. Las consecuencias de un falso negativo se traducen en un control axilar defectuoso y en una inadecuada estadificación de la enfermedad, lo que conllevaría una incorrecta valoración del tratamiento adyuvante y un mayor riesgo de recidiva axilar.

Para realizar la validación de la biopsia del ganglio centinela en nuestro Centro, seguimos las recomendaciones del Consenso Nacional sobre Ganglio Centinela en Cáncer de Mama, celebrado en Salamanca en octubre de 2001, que contó con la participación de la Asociación Española de Cirujanos, la Sociedad Nacional de Medicina Nuclear y la Sociedad Española de Anatomía Patológica, y que era el consenso vigente en el momento del diseño del presente estudio. En dicha reunión participaron los principales hospitales

españoles en los que se realizaba la biopsia del ganglio centinela, y se dictaron las recomendaciones a seguir por los grupos que quisieran validar sus resultados e implantar la técnica (Consenso_de_Salamanca 2001). En los puntos 21, 22 y 23 de este Consenso, se recomendaba que "*la acreditación para realizar la técnica debía ser personal y de grupo, y afectaría a cirujanos, médicos nucleares y patólogos*", y que "*cada grupo debía validar la técnica mediante unos resultados mayores de un 90% de localización y menores o iguales al 5% de falsos negativos, en un número de 50 casos*". En relación con esto, habría que comentar que el número de pacientes necesarios para validar la técnica estaba siendo una cuestión ampliamente discutida, que había obligado a la celebración de consensos similares al de Salamanca en el ámbito internacional. Por dicho motivo, la *American Society of Breast Surgeons,* publicó en septiembre de 2000 sus recomendaciones, en las que aconsejaba la realización de al menos 30 casos con una identificación superior al 85% y menos de un 5% de falsos negativos; mientras que la *Canadian Medical Association* defendía que 20 casos son suficientes, con el mismo porcentaje de identificación y de falsos negativos (Cantin et al. 2001).

Independientemente de las discrepancias existentes sobre el número de casos necesarios, en lo que sí había acuerdo es en el hecho de que existe una curva de aprendizaje que se debe realizar antes de abandonar la linfadenectomía axilar sistemática (Tafra 2001). En este estudio, hemos seguido las recomendaciones citadas en cuanto al número de casos necesarios, y los resultados superaron las exigencias establecidas por el Consenso de Salamanca (100% de identificación, 4,5% de falsos negativos).

Con respecto a la realización de la técnica, en dicho Consenso se recomendaba la utilización de colorante para mejorar el porcentaje de identificación del ganglio centinela (puntos 2, 10, 11 y 12). En nuestro trabajo no fue necesario, ya que usando sólo radiotrazador se pudo detectar y extraer el ganglio centinela en todos los casos. También debemos apuntar que la actividad del radiotrazador administrado, a pesar de ser menor de la aconsejada (0,8 mCi), fue suficiente para la localización del ganglio centinela en todas las pacientes (punto 6 del Consenso).

Sin embargo, en cuanto al lugar de inyección, existía más controversia (punto 8). Había sido un tema bastante discutido y aunque en el consenso no se contemplaba la inyección subareolar, en el ámbito internacional se aceptaba en aquel momento que la técnica era válida, y había trabajos que defendían que podía ser incluso superior (Kern and Rosenberg 2000; Beitsch et al. 2001; Zavagno et al. 2002). Estos trabajos se basaban en el hecho demostrado de que el drenaje linfático de la mama es recolectado en primer lugar en el plexo subareolar de Sappey, y desde allí conducido hasta la axila, a través de uno o varios canales linfáticos. La inyección subareolar se perfila entonces como un procedimiento válido, e incluso en ocasiones superior, al realizado con la administración peritumoral (Mignotte et al. 2000). Además, esta vía de inyección parece apropiada en todos los casos, independientemente de la localización del tumor primario, o de su tamaño. También hay estudios publicados que defienden su utilidad en tumores multicéntricos, y en las pacientes en las que se ha realizado biopsia escisional previa (Maza et al. 2004).

Teniendo en cuenta todo lo anterior, es obvio que la administración subareolar del radiotrazador presenta varias ventajas respecto a otras vías de administración propuestas por el consenso:

i) se trata de una inyección única
ii) el paciente recibe menor dosis de radiación
iii) no precisa localización del tumor con otras técnicas, por lo que es más fácil su administración por el médico nuclear, y
iv) la imagen de la inyección no interfiere con la de los ganglios axilares en aquellos casos en los que el tumor está localizado cerca de la axila (Armas et al. 2005)

En lo que se refiere al tamaño tumoral máximo en el que se puede aplicar la biopsia del ganglio centinela tampoco existía en aquel momento un acuerdo internacional. En el Consenso de Salamanca se recomendaba excluir todos los tumores mayores de 30 mm, ya que las probabilidades de afectación

ganglionar aumentan de forma directamente proporcional al tamaño del tumor y puede existir invasión masiva del ganglio centinela, lo que impediría la concentración del radiotrazador necesaria para localizarlo (un fenómeno llamado "*bloqueo metastásico*" que puede provocar la existencia de un falso negativo). Analizando los casos de falsos negativos obtenidos en nuestra serie, encontramos que uno de ellos medía 24 mm, y el otro 30 mm, lo que podría justificar, al menos en parte, el fallo de la técnica en esos dos casos.

Otra de las cuestiones permanentemente en discusión es la referente a la biopsia cuando el ganglio centinela aparece localizado en la cadena mamaria interna. En nuestro estudio, el 6% de las pacientes presentó drenaje hacia esta cadena linfática, porcentaje que se encuentra dentro de lo referido en la literatura médica (rango 2.41-25.3%) (Acea 2003). Por lo tanto, contrariamente a lo enunciado en el Consenso de Philadelphia (Schwartz et al. 2002), la inyección subareolar sí puede poner de manifiesto drenaje extra-axilar (Fig.24). En nuestro centro, se decidió no realizar de manera sistemática la biopsia de los ganglios centinelas situados en la cadena mamaria interna, ante la falta de estudios existentes que demostraran un alto nivel de evidencia que justificara lo contrario. No obstante, se llevó a cabo la biopsia del ganglio centinela en la cadena mamaria interna a las dos primeras pacientes que presentaron drenaje en ella, siendo en ambos casos negativa para infiltración metastásica.

Una de las ventajas de la biopsia del ganglio centinela es el hecho demostrado de que puede mejorar la estadificación de la enfermedad, debido a que el análisis anatomopatológico del ganglio centinela es más preciso y exacto que el realizado en una linfadenectomía tradicional (Meijer et al. 2002). De esta forma, el estudio exhaustivo del ganglio centinela por parte del servicio de anatomía patológica permite la detección de células tumorales aisladas, también llamadas submicrometástasis o nidos celulares (con un tamaño inferior a 0.2 mm), lo que en nuestra serie de validación ha ocurrido en el 11% de los casos. Como consecuencia de lo anterior, la tasa de re-estadificación por micrometástasis aumenta considerablemente, ya que lesiones que no podían ser detectadas anteriormente pueden constituir el punto de partida para tomar decisiones en el tratamiento. Este hecho tuvo tal repercusión, que fue

contemplado en las sucesivas revisiones de la clasificación TNM realizada por la *American Joint Committee on Cancer Stating System for Breast Cancer* en septiembre de 2002 (Singletary et al. 2002). En esta revisión se acordó, por ejemplo, una nomenclatura nueva para las lesiones identificadas mediante inmunohistoquímica o técnicas moleculares, pero con resultado negativo en el estudio tradicional con hematoxilina-eosina.

1.5. CONCLUSIONES

A excepción de los niveles de radioactividad del fármaco (que eran inferiores) y de la vía de inyección (que no era la recomendada), seguimos las recomendaciones del citado Consenso Nacional de Salamanca sobre Ganglio Centinela en Cáncer de Mama, y obtuvimos buenos resultados en la fase de validación de la técnica (100 casos, 100% de detección y 4,5% de falsos negativos). En conclusión, podemos afirmar que la inyección subareolar del trazador, a pesar de ser una técnica poco extendida, es un procedimiento útil para la identificación del ganglio centinela en pacientes con cáncer de mama. Este tipo de inyección presenta múltiples ventajas frente a otros métodos, siendo el más destacable que no precisa localizar previamente al tumor. Además, podría llegar a ser la técnica de elección en casos de tumores multicéntricos o con biopsia escisional previa.

2. APLICABILIDAD DE LA TÉCNICA EN FASE ASISTENCIAL

Hemos visto en el apartado anterior de este trabajo, que la biopsia selectiva del ganglio centinela con inyección subareolar es una alternativa metodológica que presenta ciertas ventajas respecto a otros métodos de biopsia del ganglio centinela. Tal y como se acaba de describir, esta variante metodológica fue validada en nuestro medio en una cohorte inicial de 100 pacientes. Una vez conseguida esa validación, la técnica comenzó a aplicarse de forma rutinaria en nuestro complejo hospitalario, momento a partir del cual se reclutó una cohorte de 348 pacientes consecutivos. A continuación se detallan y discuten los resultados obtenidos en dicha serie.

2.1. OBJETIVO DE LA FASE ASISTENCIAL

Desde hace casi dos décadas, la realización de linfadenectomías axilares rutinarias ha ido desapareciendo, especialmente en los pacientes en estadios iniciales de la enfermedad (Cady 1994). Tanto las características propias de cada tumor (tamaño, grado de diferenciación, angiogénesis, invasión vascular o invasión linfática) (Clark 1996) como determinados marcadores tumorales (Fase S, ploidía, expresión de oncogenes, receptores estrogénicos) condicionan actualmente el pronóstico de la enfermedad, y son considerados tanto o más relevantes que la linfadenectomía axilar (Cady 1997). El hecho de que un altísimo porcentaje de pacientes sometidas a una linfadenectomía axilar sufran importantes comorbilidades (se estima un porcentaje del 75% en los peores análisis) (Ivens et al. 1992) (Ivens et al. 1992; Kakuda et al. 1999), justifica la necesidad del uso de esta técnica en los casos estrictamente necesarios. En nuestra serie de validación, en la cual todas las pacientes recibieron linfadenectomía, el porcentaje de comorbilidades asociadas a la misma fue del 18%. En este contexto, y teniendo en cuenta el importantísimo impacto que la afección ganglionar tiene sobre el pronóstico de la enfermedad (aún en estadios iniciales), es donde la biopsia del ganglio centinela tiene su mayor sentido.

Se discute todavía hoy cuál es la mejor técnica para la localización del ganglio centinela en el cáncer de mama. Las inyecciones peritumoral e intratumoral son las más utilizadas, y también se está extendiendo el uso de la inyección subdérmica e incluso intradérmica. La validación de la inyección subareolar con nanocoloides marcados con ^{99m}Tecnecio para la localización del ganglio centinela nos ha conducido, en una segunda fase de este trabajo, a estudiar su aplicabilidad en la práctica clínica diaria. La principal ventaja que ofrece esta técnica respecto a otras es que no precisa localizar previamente el tumor para realizar la inyección del radiotrazador, y que evita la superposición de actividad entre las lesiones localizadas en el cuadrante superoexterno y los ganglios de la axila.

Además, podría ser útil en los tumores multicéntricos, donde una única inyección permitiría localizar los ganglios centinelas, evitando varias inyecciones intratumorales y facilitando así el proceso. En el caso de tumores con exéresis previa, la biopsia centinela con inyección subareolar también sería ventajosa frente al resto, ya que no depende de la presencia previa del tumor (como ocurriría en el caso de que se realizara inyección intratumoral).

El objetivo específico de esta fase del estudio, se centra, como ya hemos visto, en estudiar y analizar la aplicabilidad de la técnica en nuestro medio y valorar el impacto de la misma en el manejo de la enfermedad.

2.2. DISEÑO DEL ESTUDIO ASISTENCIAL

2.2.1. Sujetos

Un total de 348 pacientes con cáncer de mama fueron incluidas en esta fase del estudio entre abril de 2003 y noviembre de 2006, de las cuales 153 pacientes procedían del Hospital Materno-Infantil (44%) y 195 pacientes pertenecían al Hospital Universitario Insular (56%). La media de edad al diagnóstico de las pacientes fue de 55.8 ± 11.8 años (mediana 54.5, rango 25-88 años), y su distribución no fue distinta según el hospital de procedencia (test

Kruskal-Wallis, p = 0.141). El 19.3% de las pacientes tenía una edad inferior a los 45 años, el 30.7% de las pacientes tenían una edad al diagnóstico comprendida entre los 45 y 54 años, y el 50% restante tenía más de 55 años al diagnóstico (25.9% con 65 años o más) (Fig.25). Todas las pacientes eran de sexo femenino.

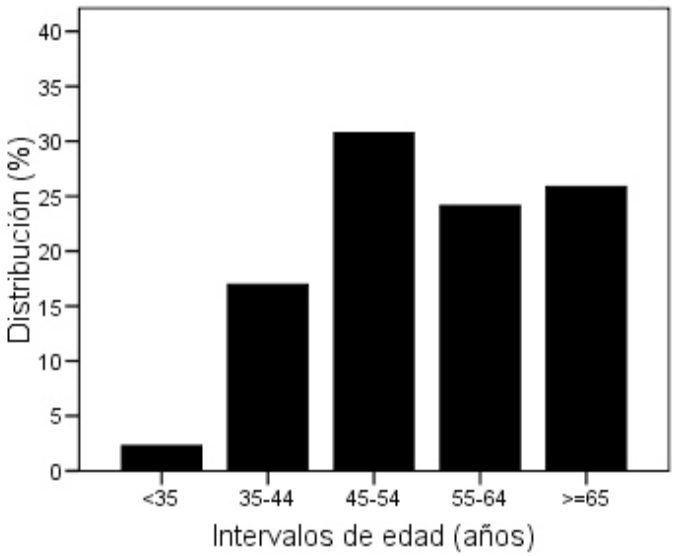

Figura 25. Distribución de la variable edad en esta serie de pacientes.

La mayoría de las pacientes (n = 206, 59.2%) estaban asintomáticas en el momento del diagnóstico, y había acudido a consulta por hallazgos objetivados en el programa de *screening*. El resto de pacientes (n = 142, 40.8%) había consultado a su médico por algún síntoma o signo de enfermedad, siendo el más frecuente la presencia de un nódulo palpable. Esta distribución se mantiene cuando la serie se divide según el hospital de origen de la paciente.

En cuanto a la localización del tumor, se evidenció que la mayor parte de las mujeres presentaron la tumoración en la mama izquierda (n = 201). La mayoría de las pacientes tuvo el cuadrante superior externo como el lugar más frecuente de localización tumoral (n = 125, 35.9%), seguido en frecuencia por la unión de los cuadrantes superiores y el cuadrante superior interno, tal y como se detalla en la Tabla 11.

Tabla 11. Localización tumoral		
Localización	**n**	**(%)**
Cuadrante superior externo (CSE)	125	(35.9)
Cuadrante superior interno (CSI)	45	(12.6)
Unión de cuadrantes superiores (UCS)	46	(13.2)
Cuadrante inferior externo (CIE)	12	(3.4)
Cuadrante inferior interno (CII)	23	(6.6)
Unión de cuadrantes inferiores (UCInf)	12	(3.4)
Unión de cuadrantes exteriores (UCE)	30	(8.6)
Unión de cuadrantes internos (UCInt)	26	(7.5)
Areola	28	(7.8)
Multicéntrico	1	(0.3)

Si agrupamos los casos en los cuales el tumor estaba localizado en los cuadrantes externos, superiores e inferiores, y aquellos en los que estaba en el límite del mismo (CSE, CIE, UCE), obtenemos un total de 167 casos. Es decir, en el 47.9% de las pacientes el tumor estaba localizado en una región donde potencialmente se podía dar el fenómeno conocido como *"shine through*", ya explicado en el apartado de introducción, y que hace referencia al hecho de que la radiactividad procedente del lugar de inyección del trazador puede ocultar la que emiten los ganglios radiactivos muy cercanos al mismo, y por lo tanto pasar desapercibidos tanto en la gammagrafía como en la localización intraoperatoria. Este hecho ocurre en ocasiones en los tumores localizados cerca de la axila en los cuales se realiza una inyección intratumoral o peritumoral.

2.2.2. Técnica

La técnica de la biopsia del ganglio centinela con inyección subareolar se aplicó a todas las pacientes de la serie tal y como se había utilizado en la fase de validación. Pero a diferencia de dicho periodo, solo en aquellas pacientes que tuvieron ganglios centinelas afectados se realizó linfadenectomía axilar.

Además, como ya se ha explicado en la sección de material y métodos de esta Tesis Doctoral, en caso de que la afectación del ganglio centinela fuera exclusivamente por micrometástasis, se estableció un protocolo distinto para cada uno de los hospitales, ya que el Hospital Insular realizó la linfadenectomía axilar en este tipo de pacientes, mientras que en el Hospital Materno no llevó a cabo la misma.

2.2.3. Análisis estadístico

El procesado estadístico de los datos se ha hecho de acuerdo a lo expuesto en la sección de Material y Métodos general de esta Tesis Doctoral.

2.3. RESULTADOS DE LA FASE ASISTENCIAL

2.3.1 Relación del motivo de consulta con otras variables

La variable "motivo de consulta" recogida en este trabajo es dicotómica y divide a las pacientes según la razón por la cual ha terminado siendo diagnosticada y tratada en nuestro centro. Una de las posibilidades es ser asintomática, no presentar ninguna tumoración palpable ni ningún otro síntoma de enfermedad (a excepción de la lesión objetivada en la mamografía o ecografía), condición que se ha recogido como caso procedente de "*screening*" y la otra opción es la de aquellas pacientes que han consultado al especialista por algún motivo clínico. Correlacionando esta variable con las demás es interesante observar cómo el tamaño de los tumores fue significativamente diferente según el "motivo de consulta". Así, entre las pacientes que acudieron a consulta por *screening* la mediana de tamaño tumoral fue de 14 mm (media = 16,2 ± 11,5) frente a los 20 mm (media = 20,6 ± 8,6) observado entre el subgrupo de pacientes que acudieron a consulta por un motivo clínico ($p < 0.0001$), test de Kruskal-Wallis).

Esta observación también se ve traducida en términos de grado y TNM tumoral (Tabla 12). Así, de los 110 pacientes con grado I, 74 eran pacientes de *screening* mientras que solo 36 habían acudido a consulta por un motivo clínico. Una proporción parecida se observa para los tumores grado II. De los 65 tumores grado III, 28 eran de pacientes de *screening* y 37 de pacientes clínicos. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas (p = 0.007, test de chi cuadrado).

Respecto al TNM destaca que de los 22 tumores *in situ*, 18 fueron detectados entre ese subgrupo de pacientes del *screening*. De los 127 pacientes estadiados como T1N0M0, 90 pertenecían al grupo de *screening* (70.9%); mientras que de los 41 pacientes estadiados como T2N0M0, solo 22 pertenecían a dicho programa (41.5%). Esta distribución de frecuencias se mantenía de manera general en todos los estadios, y las diferencias eran estadísticamente significativas (*p < 0.0001*, test de chi cuadrado).

Tabla 12. Relación del motivo de consulta con el tamaño y grado tumoral

	Motivo de Consulta		
	Screening	**Clínico**	***P***
Tamaño tumoral (media, en mm)	14	20	< 0.0001
Grado			0.007
I	74	36	
II	71	49	
III	28	37	
TNM			< 0.0001
In situ	18	4	
T1N0M0	90	37	
T2N0M0	17	24	

2.3.2 Variables relacionadas con el tumor primario

2.3.2.1 Tamaño del tumor

La variable “tamaño tumoral” medida por el análisis anatomopatológico definitivo, tuvo una media de 18.1 ± 10.6 mm (mediana 17, rango 2-8), no siguiendo esta variable una distribución normal (Fig. 26), y mostrando una amplia variabilidad.

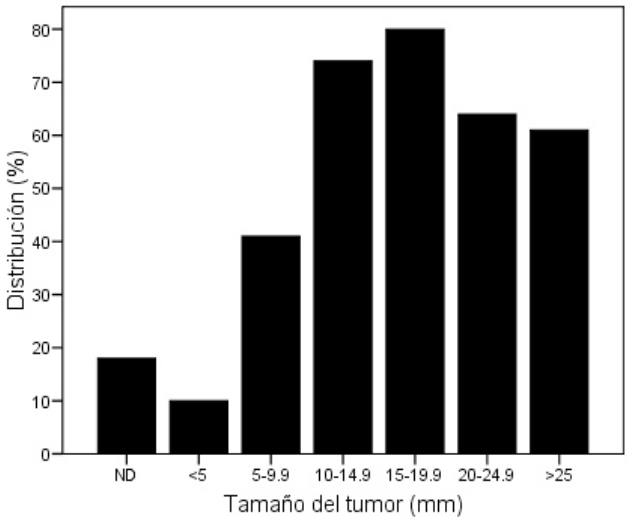

Figura 26: Distribución de frecuencias de la variable tamaño tumoral.

En la bibliografía encontramos estudios que sostienen que en el momento del diagnóstico el tamaño medio del tumor en las mujeres de origen hispano es mayor que el de las de origen no hispano (Connor et al. 2013). Desde un punto de vista estricto, las mujeres de nuestra comunidad autónoma son españolas, y por extensión, de origen caucásico, y los hallazgos observados en nuestra serie concuerdan con los descritos por Connor, quien afirma que la raza hispana hace más probable encontrar tumores mayores de 10 mm en el momento del diagnóstico.

Por otro lado el hecho de que más del 40% de las pacientes de nuestra serie acudiera a consulta por motivos clínicos hace que el tiempo al diagnóstico sea mayor y por tanto que el tamaño tumoral medio en dicho momento también lo sea. Esta hipótesis también se comprueba en nuestra serie, donde el tamaño

medio del tumor fue de 14 vs. 20 milímetros según la paciente acudiera a consulta por motivos de screening o clínico.

2.3.2.2 Tipo tumoral

Tras el análisis de anatomía patológica se evidenció que el 78.7% de los tumores eran de tipo carcinoma ductal infiltrante (n = 274) (Tabla 13), siendo mucho menos frecuente la histología correspondiente a otros tipos tumorales.

Tabla 13. Tipo tumoral tras análisis anatomopatológico

	n	**(%)**
Carcinoma ductal infiltrante	274	(78.7)
Carcinoma lobulillar infiltrante	19	(5.5)
Carcinoma in situ	21	(6.0)
Otros	15	(4.3)
Benigno	19	(5.5)

El carcinoma ductal infiltrante (CDI) es la forma más frecuente de cáncer de mama invasivo, constituyendo un 80% de todos los casos registrados (Breast_Cancer_Network_of_Strength), y según la Sociedad Americana del Cáncer, aproximadamente dos tercios de las mujeres que son diagnosticadas con cáncer de mama invasivo tienen 55 años o más. Estos datos están de acuerdo a lo observado en nuestra serie, donde el porcentaje de mujeres con CDI fue del 78.7%, y la edad media de las pacientes fue de 55.8 años para la serie completa, y de 55.7 para el subgrupo de pacientes con CDI.

Por su parte, el carcinoma lobulillar infiltrante (CLI) representa aproximadamente el 5% de todos los cánceres malignos invasivos y tiende a ser más frecuente en mujeres entre 45 y 55 años de edad (Breast_Cancer_Network_of_Strength). La frecuencia de CLI en nuestro estudio fue del 5.5%, y la edad media de este subgrupo de pacientes fue de 59 años, por lo que en líneas generales, en cuanto a estas variables se refiere, nuestra serie parece representativa de la mayoría de series publicadas en la bibliografía.

2.3.2.3 Estadiaje.

En cuanto al estadiaje anatomopatológico (pTNM), algo más de un tercio de las pacientes fueron estadiadas como T1N0M0 (n = 127, 38.7%), seguido en frecuencia por el estadio T2N0M0 (n = 41, 12.5%). En la Tabla 14 se detalla la distribución TNM patológica (*p*TNM) de las pacientes.

Tabla 14. Distribución de pTNM

TNM	**n**	**(%)**
In situ	22	(6.7)
T1N0M0	127	(38.7)
T1N0(i+)M0	11	(3.4)
T1N1M0	30	(9.1)
T1N1miM0	15	(4.6)
T1N2M0	7	(2.1)
T1N3M0	3	(0.9)
T2N0M0	41	(12.5)
T2N0(i+)M0	8	(2.4)
T2N1M0	30	(9.1)
T2N1miM0	17	(5.2)
T2N2M0	10	(3.0)
T2N3M0	4	(1.2)
T3N0M0	1	(0.3)
T3N1M0	2	(0.6)
No determinado	1	(0.3)

La distribución del estadiaje tumoral se encuentra íntimamente relacionada con un componente cultural intrínseco a cada grupo de pacientes estudiadas. La presente serie incluye pacientes de todos los estadios tumorales, y dado que en nuestro medio existe una conciencia social amplia acerca del cáncer de mama, implementada durante años por programas de formación de la sociedad (Canarias Contra el Cáncer, Instituto Canario de Investigación del Cáncer), y por la puesta en marcha de programas de diagnóstico precoz desde la Consejería de Sanidad de nuestra Comunidad Autónoma, hacen que la mayor

parte de las pacientes sean diagnosticadas en estadios iniciales de la enfermedad (T1-T2, N0), como es el caso de nuestra serie. En ésta, se observa que más del 50% de las pacientes se estadian como T1N0 o T2N0, que en general se consideran de muy buen pronóstico, algo que además viene muy influenciado por el motivo de consulta; de tal manera que las pacientes que acudieron a consulta por motivos de screening no solo fueron diagnosticadas con tumores de menor tamaño, sino también con estadiajes menores. Todo ello reafirma la utilidad de los programas de cribado puestos en marcha por las autoridades sanitarias.

2.3.2.4. Lesiones benignas observadas en el análisis anatomopatológico definitivo.

En nuestra serie, encontramos pacientes que a pesar de haber sido incluidas inicialmente como enfermas con cáncer de mama a expensas de un PAAF altamente sospechoso o compatible con carcinoma, presentaban finalmente una tumoración benigna en el análisis anatomopatológico intraoperatorio (n=19, 5.5%). En estas pacientes no se procedió a la localización y extirpación del ganglio centinela, a pesar de haber sido observado en la gammagrafía (ver más adelante).

2.3.2.5 Grado de diferenciación tumoral

Respecto al grado de diferenciación tumoral, la mayoría de los tumores fueron de grado I y II (n = 110 y 120, 31.6 y 34.5%, respectivamente). Solo el 18.7% del total de las pacientes presentó tumores pobremente diferenciados (n = 65).

2.3.3 Variables relativas al ganglio centinela

El número de pacientes que conforman la fase asistencial de este trabajo es de 348 y a todas ellas se les realizó la técnica objeto de estudio, es decir, la biopsia del ganglio centinela. El siguiente esquema (Fig. 27), muestra el proceso que siguieron todas ellas, y ayuda a analizar las variables relativas al

ganglio centinela y los motivos por los cuales la técnica se completó finalmente solo en 320 casos.

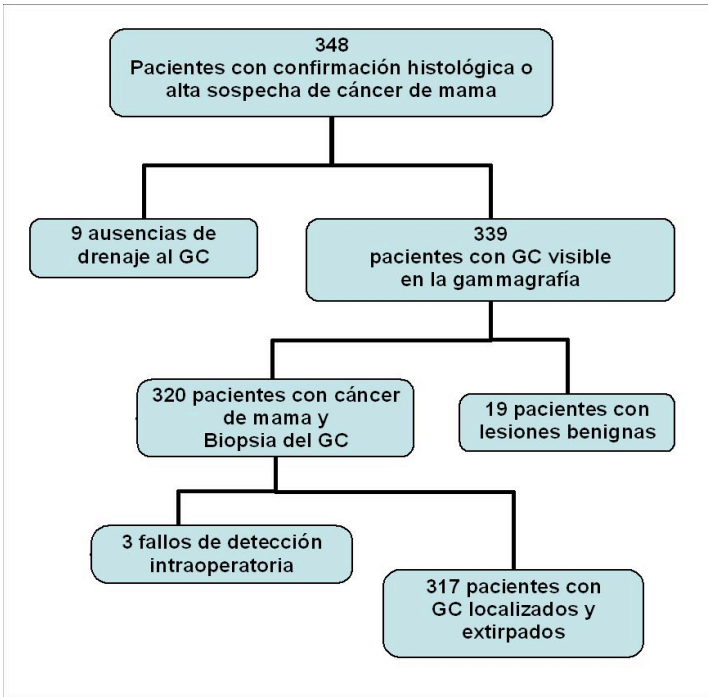

Figura 27. Análisis del flujo de pacientes de la fase asistencial. GC: ganglio centinela.

2.3.3.1 Ausencia de drenaje

Como acabamos de ver, la aplicación de la técnica de la biopsia del ganglio centinela se llevó a cabo en el total de las 348 pacientes que conforman la serie de esta fase del trabajo. Tras la inyección del radiotrazador se observó drenaje en 339 casos, en los cuales existía al menos un ganglio centinela en la gammagrafía (eficacia técnica prequirúrgica = 97.4%). En 9 pacientes no se observó ningún ganglio centinela, a pesar de llevar a cabo la reinyección de la dosis a las dos horas tal y como se recomienda en la literatura (Meretoja et al. 2010). Esta ausencia de drenaje y fracaso para localizar el ganglio centinela hizo preciso la realización de una linfadenectomía axilar en dichas pacientes. Las características tumorales de esas nueve pacientes quedan resumidas en la Tabla 15.

Tabla 15. Características tumorales de las 9 pacientes en las que no se observó ganglio centinela en la gammagrafía

	Edad	Localización	Tipo histológico (tamaño en mm)	TNM (mtts/total)	Grado
1	58	CSI- MD	In situ	T in situ	III
2	56	UCS-MI	CDI (8)	T1N0M0 (0/17)	III
3	50	UCS-MD	CDI (18)	T1N0M0 (0/15)	II
4	65	UCI-MI	CDI (22)	T2NOM0 (0/11)	III
5	51	CIE-MD	CDI (12)	T1N1M0 (1/13)	II
6	65	CSE-MI	CDI (52)	T3N1M0 (1/14)	II
7	73	CSE-MD	CDI (25)	T2N1M0 (1/16)	II
8	66	CSE-MI	CDI (15)	T1N1M0 (3/22)	II
9	53	CSE-MD	CDI (23)	T2N3aM0 (34/41)	III

Abreviaturas: CSI, cuadrante superior interno, UCS, unión de cuadrantes superiores; UCI, unión de cuadrantes inferiores; CIE, cuadrante inferior externo; CSE, cuadrante superior externo; CDI, carcinoma ductal infiltrante; mtts/total, relación de ganglios metastáticos frente al total de ganglios extirpados; MD, mama derecha; MI, mama izquierda.

No se observa un patrón común entre estas 9 pacientes que pueda explicar la ausencia de drenaje en las mismas, a excepción de que todos los casos presentaban edades similares y de que en el 88.8% (n=8) se trataba de carcinomas ductales infiltrantes.

La falta de drenaje al ganglio centinela es un fenómeno relativamente infrecuente ante el cual no siempre se encuentra explicación. El motivo más conocido es la existencia de una interrupción en el drenaje linfático tanto en el trayecto hasta el ganglio centinela, como en el mismo ganglio, (bloqueo metastásico), situación en la cual el ganglio se encuentra totalmente invadido por células metastásicas y deja de realizar su función habitual de drenaje. La localización del tumor en el trayecto entre la areola y la axila puede interrumpir el drenaje hacia las estaciones ganglionares (Krag et al. 2007), como lo apoya el hecho de que todas las pacientes de nuestra serie que presentaron falta de drenaje por bloqueo metastásico, tuvieran el tumor localizado en el cuadrante superoexterno.

En 5 de estas 9 pacientes se encontró afectación ganglionar. Tras el análisis anatomopatológico se descubrió metástasis ganglionares de hasta 20 mm de tamaño, y un hallazgo común a todos estos casos fue la presencia de desbordamiento capsular, así como la infiltración del tejido adiposo periganglionar en dos ocasiones.

Otro de los factores relacionados con la existencia de bloqueo metastásico es el tamaño tumoral, de tal manera que a mayor tamaño, mayor probabilidad de que ocurra este tipo de evento (Krag et al. 2007). La media del tamaño tumoral en esta serie de nueve pacientes fue de 21.9 ± 13.5 mm, mientras que en el resto de los casos estudiados fue de 18.0 ± 10.5 mm, sin que las diferencias encontradas fueran estadísticamente significativas (p= 0.360), probablemente debido al escaso tamaño de la muestra de las que no drenaron.

2.3.3.2 Análisis del drenaje

En las 339 pacientes en las que sí se observó ganglio centinela en la gammagrafía, se detectó una media de 1.56 ± 0.731 ganglios centinelas visualizados (mediana 1, rango 0-5). La tabla 16 describe la distribución de frecuencias del número de ganglios detectados por paciente. La mayoría de ellas solo presentó un único ganglio centinela (n = 167, 49.3%).

Tabla 16. Número de ganglios centinelas detectados por paciente

Número	Frecuencia	(%)
1	167	(49.3)
2	146	(43.1)
3 o más	26	(7.6)

No se observó que el número de ganglios detectados fuera diferente en función de la edad (prueba de Kruskal-Wallis, p = 0.116), según el hospital de procedencia de la paciente (p = 0.072) o el motivo de consulta (p = 0.475). Tampoco se observaron diferencias entre el número de ganglios detectados en

la gammagrafía y la localización y características tumorales tales como el tamaño, la invasión vascular o la invasión perineural.

2.3.3.3. Drenaje a la cadena mamaria interna

Es de destacar que en 16 pacientes de las 339 se observó algún ganglio centinela en la cadena mamaria interna, lo que supone un 4,7% de drenaje a dicho lugar, que se asemeja al 4,2% observado en la serie de validación con este tipo de inyección. El número medio de ganglios centinelas visualizados en la cadena mamaria interna fue de 1.38 ± 0.5 (mediana 1, rango 1-2). De estas 16 pacientes, 10 tuvieron un único ganglio y 6 tuvieron 2 (62.5 vs. 37.5%, respectivamente). A pesar de su visualización en la gammagrafía, en ningún caso se procedió a la extirpación de los mismos, por común acuerdo del comité de mama del Complejo Hospitalario Universitario Materno Infantil en el que se ha realizado este estudio.

Uno de los aspectos más controvertidos en la aplicación de los diferentes métodos para la realización de la biopsia del ganglio centinela es el que hace referencia al drenaje del trazador hacia los ganglios extra-axilares, más concretamente a la cadena mamaria interna. En cuanto al drenaje linfático del tumor, se ha observado que, independientemente de donde esté localizado, todos los cuadrantes pueden drenar a las dos estaciones de drenaje, esto es, a la región axilar y a la mamaria interna, predominando en todos ellos, sin embargo, la localización axilar (Estourgie et al. 2004). El porcentaje de visualización de esta cadena al aplicar la inyección subareolar, es inferior al reportado en otras series en las que describen hasta un 30% (Chen et al. 2008). Sin embargo, es reconocido, que la escisión quirúrgica de estos ganglios es difícil y no está exenta de complicaciones, por lo que la biopsia de los ganglios localizados en esta cadena no se suele realizar rutinariamente a pesar de ser vistos en la gammagrafía.

2.3.3.4 Análisis de la localización intraoperatoria de los ganglios centinelas

De las 339 pacientes en las que se observó la presencia de algún ganglio centinela en la gammagrafía solo en 320 se procedió a la extirpación de los

mismos, ya que como acabamos de ver, en 19 pacientes el análisis anatomopatológico demostró que la lesión analizada era finalmente una lesión benigna. De esas 320 pacientes hubo solo 3 casos en los cuales, a pesar de haberse identificado un ganglio centinela en la gammagrafía, no se pudo localizar posteriormente en el quirófano (eficacia técnica quirúrgica = 99%). Las características tumorales de estas pacientes en las cuales no se pudo localizar el ganglio centinela están en la Tabla 17.

Tabla 17. Características tumorales de las pacientes en las que no se extirpó ganglio centinela a pesar de haber sido vistos en la gammagrafía: fallo de detección intraoperatorio.

Paciente	Edad	Localización del tumor	Tipo histológico	TNM	Grado
1	71	Areola	Otros	T1N0M0	I
2	61	UCI	In situ	In situ	I
7	43	UCS	CDI	T1N0M0	I

Abreviaturas: UCI, unión de cuadrantes inferiores; CSE, cuadrante superior externo; UCS, unión de cuadrantes superiores; CDI, carcinoma ductal infiltrante.

El motivo común a estos tres casos en los cuales falló la detección intraoperatoria fue probablemente la existencia de un drenaje insuficiente al ganglio centinela, ya que en los tres casos se observó un ganglio con poca capacidad de concentración del trazador que era levemente visible en la gammagrafía (Fig. 28), y cuya actividad fue insuficiente para la detección posterior en el quirófano.

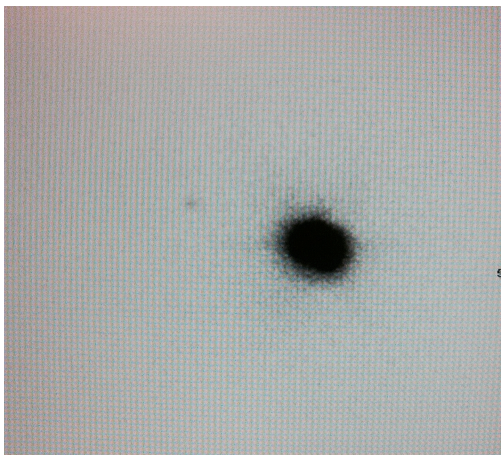

Figura 28. Drenaje débil hacia la región axilar, en uno de los casos en los cuales fue imposible localizar el ganglio centinela en el quirófano.

2.3.3.5 Ganglios centinelas extirpados

La media de ganglios centinelas biopsiados entre el total de las pacientes en las cuales se realizó la localización y extirpación de los mismos (n = 317) fue de 2.68 ± 1.82 (mediana 2, rango 1-11). Como ya se ha explicado, durante la intervención se usa una sonda detectora de radiación gamma para localizar directamente los ganglios que dan señal radiactiva. La sensibilidad de esta sonda es mayor que la de la gammacámara, por lo que es frecuente que en una paciente en la que se haya observado por gammagrafía un único ganglio centinela, en el quirófano haya más ganglios que emitan señal. Esto explica el hecho de que en la mayoría de las pacientes se extrajeran dos ganglios centinelas (n = 112, 34.3%), seguido de cerca por las pacientes a las que se le extirpó un único ganglio centinela (n = 81, 24.8%). La distribución de frecuencias del número de ganglios centinelas extirpados se resume en la Tabla 18.

Tabla 18. Número de ganglios centinelas detectados y extirpados

Número	Frecuencia	(%)
1	81	(25.5)
2	112	(35.3)
3	64	(20.2)
4 o más	60	(19.0)

No se observó que variables como la edad, la mama afectada o la localización tumoral estuvieran relacionadas con el éxito en la extirpación de los ganglios centinelas ($p > 0,05$).

Dado que la variable “número de ganglios centinelas extirpados” es una variable discreta con hasta 11 valores (ver tabla 18), se codificó dicha variable en 1, 2, 3 y 4 o más de 4 ganglios centinelas extirpados (variable discreta con cuatro valores). De esta forma, el número de pacientes a los que se les extirpó 4 o más ganglios linfáticos fue de 60 (19.0% del total de pacientes con extirpación de ganglios). Con esta recodificación se pretende estudiar las posibles asociaciones entre esta variable y otras variables patológicas, con los

grupos de pacientes más o menos equilibrados. De esta forma, ni la edad, ni el tamaño tumoral estaban relacionados con el número de ganglios centinelas extirpados (prueba de Kruskal-Wallis, $p > 0.05$ en ambos casos). Igualmente, ni el motivo de consulta, ni la localización del tumor, ni la mama afectada estuvieron relacionadas con el número de ganglios centinela extirpados (prueba chi cuadrado, $p > 0.05$ en todos los casos).

Curiosamente, lo que sí observamos es que existen diferencias estadísticamente significativas entre el número de ganglios centinelas extirpados y el hospital de procedencia de la paciente (Tabla 19). Así, mientras que el Hospital Materno Infantil presentaba un 31.9% de pacientes con 4 o más ganglios centinelas extirpados, el Hospital Insular presentó solo un 13.4% (prueba chi cuadrado, $p < 0.0001$).

Tabla 19. Número de ganglios centinelas detectados y extirpados según hospital de procedencia

	Materno	**Insular**
Número	**Frecuencia (%)**	**Frecuencia (%)**
1	25 (18.3)	56 (30.9)
2	40 (29.4)	72 (39.8)
3	31 (22.8)	33 (18.2)
>= 4	40 (29.4)	20 (11.1)
Total	**136**	**181**

No se observaron diferencias estadísticamente significativas con el tipo histológico, el TNM, el grado de diferenciación, la invasión vascular y/o perineural (prueba chi cuadrado, $p > 0.05$ en todos los casos).

2.3.3.6 Resultado del análisis anatomopatológico de los ganglios centinelas

De las 317 pacientes en las que se realizó extirpación de ganglio centinela, 127 fueron positivos para la detección de metástasis (40.1%) y 190 fueron negativos (59.9%). La media de ganglios centinelas positivos fue de 1.45 ± 0.81 por paciente (mediana 1, rango 1-6). La mayoría de las pacientes con ganglios

positivos tenían un único ganglio afectado (n = 88, 68.8%), aunque hubo un caso excepcional de una paciente con 6 ganglios positivos. La tabla 20 resume la distribución de frecuencias del número de ganglios centinelas extirpados.

Tabla 20. Número de ganglios centinelas detectados, extirpados y metastásicos

Número	Frecuencia	(%)
1	88	(68.8)
2	29	(22.7)
3	7	(5.5)
4	2	(2.3)
6	1	(0.8)

El 42.8% de las pacientes con metástasis en algún ganglio centinela tenían carcinoma ductal infiltrante (n = 114), este porcentaje aumentó al 52.6% entre las pacientes con carcinoma lobulillar infiltrante (n = 10). No obstante, estas diferencias de frecuencia no fueron estadísticamente significativas (prueba de chi cuadrado, $p > 0.05$).

No se observaron asociaciones estadísticamente significativas en relación al grado de diferenciación tumoral o la invasión vascular y/ perineural (prueba de chi cuadrado, $p > 0.05$ en todos los casos). Dada la distribución de frecuencias de la variable “número de ganglios centinelas metastásicos”, ésta se recodificó en 1 vs. 2 o más de 2 (68.8% vs. 31.2%, respectivamente). Las asociaciones son reproducibles en todos los casos. En esta ocasión, tampoco se observó relación alguna con el hospital de procedencia, el motivo de la consulta, la mama afectada o la localización del tumor.

2.3.3.7 Análisis de los ganglios no centinelas extirpados

Durante la biopsia el ganglio centinela, es frecuente que se extirpen también otros ganglios considerados no centinelas, lo que suele ocurrir generalmente por proximidad o por sospecha macroscópica de enfermedad. Este hecho tuvo lugar en 110 pacientes. En esos 110 casos se extrajeron ganglios linfáticos no

centinelas, considerados como tales aquellos no observados en gammagrafía y que tampoco emiten señal radiactiva en quirófano. El número medio de ganglios no centinela extirpados por paciente fue de 1.64 ± 1.11 (mediana 1, rango 1-6) (Tabla 21).

Tabla 21. Número de ganglios no centinelas extirpados

Número	Frecuencia	(%)
1	71	(64.5)
2	23	(20.9)
3	7	(6.4)
4 o más	9	(8.1)

Tal y como se muestra en la tabla 21, a la mayoría de esas 110 pacientes se le extirpó un único ganglio no centinela (n = 71, 64.5%). Solo a 39 pacientes (35.5%) se les realizó una extirpación de dos o más de estos ganglios.

Al igual que ocurría con la variable "*número de ganglios centinelas extirpados*", se observan diferencias significativas en cuanto al número de ganglios no centinelas extirpados según el hospital de procedencia. Así, de las 110 pacientes, 48 pertenecían al hospital Materno-Infantil, y de estas, 25 tuvieron 2 o más ganglios no centinelas extirpados (52.1%); frente al 22.6% (n = 14) registrado entre las pacientes procedentes del Hospital Insular. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas (prueba de chi cuadrado, p = 0.002), y ponen de manifiesto diferencias entre dos centros de un mismo complejo hospitalario. No se observaron asociaciones con otras variables tales como el motivo de consulta, la mama afectada o la localización tumoral.

De las 110 pacientes a las que se le realizó una extirpación de ganglios no centinela, sólo 12 tenían metástasis en alguno de dichos ganglios (10.9%). Este subgrupo de pacientes es muy interesante, ya que daría idea de los falsos negativos que se podrían dar en la serie. Esto es, pacientes con ganglio centinela negativo que dan positivo en un ganglio no centinela. Por ello, se detalla en la tabla 22 lo concerniente a este grupo de pacientes.

Tabla 22. Descripción de estado de los ganglios centinelas en las 12 pacientes en las que se observó metástasis en ganglios no centinela

Paciente	Nº GC vistos	Nº GC extirpados	Nº GC metastásicos
1	2	2	0
2	1	1	1
3	1	1	1
4	2	1	1
5	2	1	1
6	1	3	1
7	2	4	1
8	2	2	2
9	2	2	2
10	1	4	0
11	2	2	1
12	1	1	1

Abreviaturas: GC, ganglio centinela.

A las pacientes 1 y 10 no se les detectó metástasis en los ganglios centinelas extirpados, pero sí en alguno de los ganglios no centinelas, lo que suponen 2 falsos negativos en el conjunto de las 317 pacientes a las que se les extirpó algún ganglio centinela. El porcentaje de falsos negativos detectables en esta serie de casos correspondientes a la fase asistencial alcanza el 1.5 % (2/2+127), y supone una mejoría respecto al 4,5 % observado durante la validación. No obstante estos resultados no son del todo comparables, pues en la fase asistencial, como ya se ha descrito, no se realizó linfadenectomía a todas las pacientes.

Al analizar con detalle estos dos casos se encuentra que ambas pacientes tenían pocas cosas en común: procedían de centros distintos, tenían edades diferentes (51 vs. 44 años), acudieron a consulta por distinto motivo (clínica vs. *screening*), tenían el tumor en diferente localización (unión de cuadrantes superiores vs. cuadrante supero externo); aunque ambos tumores eran

carcinomas ductales y fueron estadiados como pT1N1mi y pT1N3 respectivamente.

La media de ganglios no centinelas metastásicos en esas 12 pacientes fue de 1.17 ± 0.58 (mediana 1, rango 1-3). Es más, 11 de esas 12 pacientes tuvieron metástasis en un único ganglio no centinela (91.7%), y solo 1 paciente (8.3%) tuvo metástasis en 3 ganglios no centinelas. El tamaño de este subconjunto es demasiado pequeño para buscar asociaciones ulteriores, con lo que el presente análisis se quedará en el plano descriptivo.

2.3.3.8 Micrometástasis

El término “células tumorales aisladas” se utiliza para designar los pequeños grupos de células tumorales menores de 0.2 mm objetivados en los ganglios linfáticos. Las células tumorales aisladas se pueden detectar con métodos histológicos o por inmunohistoquímica. Cuando no se identifica ninguna metástasis mayor de 0.2 mm, independientemente del número de ganglios que puedan contener células tumorales aisladas, los ganglios regionales deben clasificarse como pN0(i+).

Las micrometástasis se definen como depósitos tumorales mayores de 0.2 mm pero menores de 2.0 mm en su dimensión mayor. Cuando se detecta alguna micrometástasis, sin macrometástasis (mayor de 2.0 mm), los ganglios regionales se clasifican como pN1mi, independientemente del número de ganglios que contengan micrometástasis.

La presencia de micrometástasis en los ganglios centinelas supone un importante punto de debate en el seno de la comunidad científica. Considerar o no un ganglio linfático con micrometástasis como N+ o N-, condiciona el estadiaje de la enfermedad, su tratamiento y su pronóstico. En nuestro grupo de pacientes a las que se le realizó con éxito la extirpación de ganglio centinela compuesto por 317 mujeres, se observó que 51 de ellas tenían micrometástasis o células tumorales aisladas (16.1%), mientras que 266 no (83.9%). Es decir, la incidencia de micrometástasis y células tumorales aisladas

en nuestra serie fue de un 16.1% del total de pacientes estudiadas. No se observaron diferencias respecto a la edad, el hospital de procedencia, el motivo de consulta, la mama afectada, la localización tumoral, el tipo histológico, el grado de diferenciación tumoral, la invasión vascular y/o la invasión perineural en las pacientes con micrometástasis respecto al resto.

De los 51 casos descritos, 25 correspondían al Hospital Materno Infantil y los 26 restantes al Insular. En el primero de los centros se había acordado no realizar linfadenectomía axilar a este tipo de pacientes, a pesar de lo cual se realizó el procedimiento en 4 ocasiones por varios motivos (afectación del ganglio centinela por micrometástasis simultánea a infiltración masiva con desbordamiento capsular de un ganglio no centinela en un caso, afectación por micrometástasis en tres de cinco ganglios centinelas aislados en otro caso, multifocalidad del tumor primario en el tercero, y a petición de la paciente en el último de los casos). En la tabla 23 se exponen las características de este grupo de pacientes una vez realizada la linfadenectomía.

Tabla 23. Resultados de la linfadenectomía axilar en las pacientes del Hospital Materno que presentaban micrometástasis en alguno de los ganglios centinelas

Caso	GC con micromtts / GC extirpados	GnoC mtss / G noC Extirpados	G mtts LAD / total G LAD
1	¼	1/1	0/31
2	3/5	0/0	1/27
3	1/1	0/0	0/13
4	¼	0/1	0/12

Es interesante destacar que tan solo en uno de los casos se observó afectación metastásica de alguno de los ganglios axilares, y que ese hecho tuvo lugar en el caso en el que se encontraron tres ganglios centinelas afectados de micrometástasis.

De las 26 pacientes con micrometástasis pertenecientes al hospital Insular se realizó linfadenectomía axilar en 18 casos, y sólo en 5 de ellos se encontró afectación metastásica en alguno de los ganglios axilares, tal y como queda

reflejado en la tabla 24. Las ocho pacientes restantes presentaban depósitos tumorales menores a los 0.2 mm, en forma de nidos subcapsulares o células tumorales aisladas, por lo que se decidió no realizar el procedimiento en esos casos.

Tabla 24. Resultados de la linfadenectomía axilar en las pacientes del Hospital Insular que presentaban micrometástasis en alguno de los ganglios centinelas y en la linfadenectomía. GC; ganglio centinela, micromtts; micrometástasis; GnoC; ganglio no centinela; mtts; metástasis; LAD; linfadenectomía.

Caso	GC con micromtts / GC extirpados	GnoC mtss / G noC extirpados	G mtts LAD / total G LAD
1	1/1	0/1	2/23
2	0/2	1/1	3/22
3	1/1	0/0	2/18
4	1/2	0/0	1/13
5	1/2	0/0	1/10

En todos los casos se trataba de carcinomas ductales infiltrantes con un tamaño comprendido entre 18 y 35 mm. Destacar el caso número dos, en el cual sólo se encontró una micrometástasis en un ganglio no centinela extirpado durante la biopsia, pero en la linfadenectomía existían tres ganglios afectados, todos ellos con micro- metástasis (falso negativo ya comentado).

Existe cierta controversia acerca del papel que las micrometástasis tienen en el cáncer de mama, máxime cuando el éxito en la identificación de las mismas depende de la técnica anatomopatológica empleada (Balic et al. 2010). Tampoco existe un consenso internacional acerca de las consecuencias que la presencia de micrometástasis tiene en el estadiaje. Es decir ¿un paciente con micrometástasis en un ganglio linfático debe considerarse N0 o N+? (Salhab et al. 2011). Lo que sí parece evidente es que los pacientes con micrometástasis en un ganglio centinela tienen una peor supervivencia (Salhab et al. 2011), y dada la falta de consenso al respecto, se aconseja tomar la decisión terapéutica para cada caso individualmente y de forma multidisciplinar. Como acabamos de ver en nuestra serie, con pacientes que proceden de dos

hospitales diferentes del mismo complejo, uno de ellos no realizó la linfadenectomía en los casos con micrometástasis mientras que el otro sí.

2.3.3.9 Resultados de la linfadenectomía axilar

A 100 pacientes se les realizó una linfadenectomía axilar, extrayendo una media de 16.2 ± 7.6 ganglios linfáticos (mediana 15, rango 3-52). De entre este grupo de pacientes el número medio de ganglios metastásicos fue de 1.7 ± 4.7 (mediana 0, rango 0-34). La mayoría de estas pacientes estaban libres de enfermedad en los ganglios analizados tras el vaciamiento (n = 57, 57%), es decir, la afectación por metástasis en esos casos se limitaba al/los ganglios centinelas extirpados. La frecuencia de ganglios metastásicos encontrados en estas pacientes queda resumida en la tabla 25. El número de pacientes con 2 o más ganglios metastásicos encontrados tras el vaciamiento axilar es de 22, lo que supone un 20% de esta subpoblación.

Para poder realizar los análisis estadísticos con un número adecuado de pacientes en los distintos subgrupos, la variable "número de ganglios matastásicos en el vaciamiento axilar" fue recodificada tal como sigue: 0, 1 y 2 o más de 2. Así, observamos que el tamaño tumoral es mayor según el número de ganglios metastásicos detectados, (media 16 ± 9 vs. 21 ± 11 mm respectivamente, prueba de Kruskal-Wallis, $p < 0.0001$).

Tabla 25. Número de ganglios metastásicos en aquellas pacientes sometidas a linfadenectomía axilar (n = 100)

Número	Frecuencia	(%)
0	57	(57)
1	21	(21)
2	5	(5)
Más de 2	17	(17)

En este caso, no se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre el número de ganglios metastásicos en el vaciamiento axilar y la edad

(prueba de Kruskal-Wallis, $p > 0.05$), el hospital de procedencia, el motivo de consulta, la mama afectada o la localización tumoral (prueba de chi cuadrado, $p > 0.05$ en todos los casos). Tampoco en relación al tipo histológico, el grado de diferenciación tumoral, la invasión vascular y/o perineural.

2.3.3.10 Receptores hormonales

Es de sobra conocido que la expresión de los receptores hormonales es determinante en el contexto del cáncer de mama. Los niveles de expresión, medidos por inmunohistoquímica, del receptor de progesterona, de estrógenos y HER2, aportan información relevante para la clasificación molecular del cáncer de mama (Luminal A, Luminal B, HER2-sobreexpresado y triple negativo), y también condicionan el tratamiento tal y como se ha expuesto en la parte de Introducción de esta Tesis Doctoral. Además la expresión de Ki67 da idea de lo proliferativo que puede ser el tumor y aporta información acerca del pronóstico de la enfermedad. Por último, el estado de p53, el gen supresor por excelencia, también aporta información relevante acerca del pronóstico de la enfermedad.

De las 348 pacientes que componen la serie completa, 287 (82.5%) tenían registrado el nivel de expresión para el receptor de estrógenos (el dato no estaba disponible tras la revisión de historias clínicas para esta Tesis Doctoral en 61 pacientes (17.5%)). Ese porcentaje fue idéntico para el caso de los valores de expresión del receptor de progesterona (tabla 26). Ciento cincuenta y ocho pacientes tenían registrado niveles de expresión de HER2 (45.4%), estando perdido el dato en 190 pacientes (54.6%). Para el caso de Ki67 y p53, el dato estuvo disponible en 116 (33.3%) y 110 (31.6%) pacientes, respectivamente. No parece haber diferencias significativas entre los hospitales respecto a la determinación del receptor de estrógenos, de progesterona y HER2 (prueba de chi cuadrado, $p > 0.05$ en todos los casos). Esto es, ambos hospitales miden con frecuencias similares estos receptores. Sin embargo, se observaron diferencias importantes respecto a la determinación de Ki67 y p53. Mientras que entre las pacientes que pertenecen al Materno ($n = 153$), el 70.6% ($n = 108$) disponen de datos relativos a la expresión de Ki67, este

porcentaje baja al 4.1% entre las pacientes del Insular (8/195), siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.0001$). Las pacientes pertenecientes al Materno disponen de los datos de expresión del p53 en el 67.3% (103/153) de los casos, pero este porcentaje baja al 3.6% entre las pacientes del Insular (7/195), siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.0001$).

La aplicación de distintos protocolos de estudio en los Servicios de Anatomía Patológica de ambos hospitales explica este hallazgo. A la vista de los resultados, parece que la determinación de Ki67 y p53 era de rutina en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Materno-Infantil, y se hacía esporádicamente en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Insular. En la actualidad ambos servicios están fusionados y siguen el mismo protocolo, realizando de forma rutinaria dichas determinaciones.

La mayoría de las pacientes mostraron receptores hormonales positivos. Así, 244 pacientes (85.0%) expresaron receptor de estrógenos, mientras que 218 fueron positivas para el receptor de progesterona (75.9%). Además de ser positivos, la mayoría de las pacientes mostraban el mayor grado de expresión (+++) de los receptores hormonales (66.2 y 56.1% para el receptor de estrógenos y progesterona, respectivamente) (Tabla 26). Por el contrario, la mayoría de las pacientes fueron negativas para la expresión de HER2 (n = 129, 81.6%), Ki67 (n = 80, 69.0%) y p53 (n = 84, 76.4%).

Tabla 26. Análisis descriptivo de los receptores hormonales y otros factores moleculares

Receptor	n	(%)
RE		
-	43	(15.0)
+	17	(5.9)
++	37	(12.9)
+++	190	(66.2)
Total	287	
RP		
-	69	(24.0)
+	24	(8.4)
++	33	(11.5)
+++	161	(56.1)
Total	287	
HER2		
-	129	(81.4)
+	29	(18.4)
Total	158	
Ki67		
-	80	(69.0)
+	35	(30.2)
NV	1	(0.9)
Total	116	
p53		
-	84	(76.4)
+	23	(20.9)
NV	3	(2.7)
Total	110	

Abreviaturas: RE, receptor de estrógenos; RP, receptor de progesterona; NV, no valorable

No se observó ninguna asociación entre ninguno de los marcadores moleculares considerados anteriormente y el motivo de consulta, la mama afectada o la localización del tumor. Sí se observó una asociación

estadísticamente significativa entre la edad de las pacientes y la expresión del receptor de estrógenos (prueba de Kruskal-Wallis, $p < 0.0001$). Así, la media de edad entre las 287 pacientes para las que se realizó determinación de este receptor fue de 56.5 ± 11.5, 48,6 ± 7.1, 51.0 ± 11.1 y 58.2 ± 11.6 según la expresión de receptor de estrógenos fuera -. +, ++ o +++, respectivamente (Fig. 30).

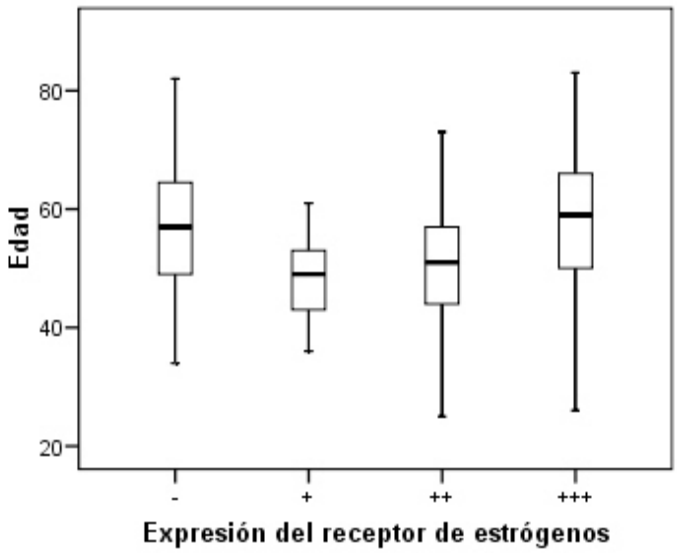

Figura 30. Diagrama de cajas y bigotes que muestra las diferencias en la distribución de edad de acuerdo a la intensidad de la expresión del receptor de estrógenos. La línea representa la mediana de la distribución y los extremos de las barras muestran los percentiles 25 y 75.

En este sentido, se observa que la intensidad de la expresión de este receptor aumenta conforme aumenta la edad. No obstante, este tipo de asociaciones no se ve con la expresión del receptor de progesterona, de HER2, p53 o Ki67.

Tal y como se muestra en la tabla 27, la expresión de los receptores de estrógeno y progesterona fue diferente según el tipo histológico.

Tabla 27. Asociación entre la expresión de los receptores de estrógeno y progesterona con el tipo histológico

	Tipo histológico				
RE	CDI	CLI	In situ	Otros	*Total*
-	32	0	7	4	43
+	15	1	1	0	17
++	30	3	4	0	37
+++	167	10	5	8	190
Total	244	14	17	12	287
RP					
-	57	0	8	4	69
+	19	1	3	1	24
++	28	1	3	1	33
+++	140	12	3	6	161
Total	244	14	17	12	287

Abreviaturas: CDI, carcinoma ductal infiltrante; CLI, carcinoma lobulillar infiltrante; RE, receptor de estrógenos; RP, receptor de progesterona.

El 68.4% de los CDI mostraban fuerte tinción para el receptor de estrógenos, este porcentaje aumenta hasta el 71.4% entre los CLI y disminuye al 29.4% entre los carcinomas *in situ* (prueba de chi cuadrado, p = 0.010). La misma tendencia se observó para el caso del receptor de progesterona (p = 0.046), pero no con el estadio, la invasión vascular y/o perineural para ninguno de los receptores.

Tampoco se halló relación alguna entre estas variables y HER2.

Sí que se descubrió una clara asociación entre la expresión de Ki67, que mide el estado proliferativo del tumor, y la invasión vascular. Así, de las 21 pacientes con invasión vascular y medición de Ki67, 12 mostraron tinción positiva de Ki67 (57.1%), frente a las 23 que lo hicieron entre las 95 pacientes sin invasión

vascular (24.2%) que mostraron esta positividad. Esta diferencia fue estadísticamente significativa (p = 0.011).

De igual forma, el tamaño del tumor fue diferente de acuerdo a la expresión de Ki67. Así, la media del tamaño tumoral fue de 17 ± 11 milímetros entre los tumores Ki67 negativo, frente a los 21 ± 11 milímetros observados entre los tumores Ki67 positivos. Esta diferencia fue estadísticamente significativa (prueba de Kruskal-Wallis, p = 0.020), y no se observó asociación estadística con ninguna otra variable tumoral.

La única asociación encontrada del p53 fue con el tamaño tumoral. El tamaño medio entre los tumores con expresión negativa de la oncoproteína fue de 18 ± 11 milímetros, frente a los 22 ± 12 milímetros, entre los tumores con expresión positiva de p53 (prueba de Kruskal-Wallis, p = 0.042).

No se observaron asociaciones significativas con las variables relacionadas con la extirpación de ganglios, ni centinelas ni no centinelas, lo que se traduce en una falta de asociación clara entre ambos grupos de variables.

2.3.4 Factores pronósticos

2.3.4.1 Invasión vascular y perineural

La invasión vascular se considera un paso esencial en el proceso de metástasis tumoral. Es el fenómeno mediante el cual el tumor comienza a producir nueva irrigación sanguínea cuya principal función es alimentar a las células tumorales en crecimiento, pero también constituye una de las principales vías de escape de las células tumorales hacia otras localizaciones (Fox et al. 2001). La invasión vascular es considerada un importante factor de morbilidad y mortalidad de la enfermedad (Mohammed et al. 2009). El papel que el factor de crecimiento vascular-endotelial tiene en el desarrollo de la invasión vascular es claro. En nuestra serie, un total de cincuenta pacientes presentaba invasión vascular. No se observó relación alguna con la presencia

de micrometástasis, aunque sí que quedó patente que las pacientes que acudían a consulta por motivos clínicos tenían un porcentaje de invasión vascular superior al de aquellas pacientes que acudían a consulta por screening (24% vs. 8%, respectivamente; $p < 0.0001$)). De la misma forma, las pacientes N+ tenían un porcentaje superior de invasión vascular. El valor pronóstico de la invasión vascular se conoce desde más de cuatro décadas, pero a día de hoy existe controversia acerca de cuál es el mejor método para determinar este importante parámetro (Mohammed et al. 2009).

La invasión perineural se asocia con frecuencia a la invasión de vasos linfáticos, pero no ha sido demostrado, que se comporte como un factor pronóstico independiente (Harris et al. 2004). De hecho, la invasión perineural no está asociada en nuestra serie ni a la presencia de micrometástasis, ni al motivo de consulta ni al estadio.

2.3.4.2 Factores pronósticos histológicos

Los factores predictivos relativos al tumor primario que más significado tienen respecto al desarrollo de metástasis axilares son: el tamaño tumoral, el grado y tipo histológico, la invasión de vasos linfáticos, el estado de los receptores hormonales, la ploidía, y la localización del tumor (Harris et al. 2004). A su vez, se conoce que de entre los factores pronósticos histológicos, la afectación ganglionar metastásica es el factor pronóstico aislado más significativo en el cáncer de mama, especialmente en los estadios precoces de la enfermedad (Carter et al. 1989; Rosen and Groshen 1990).

Los cambios en la 6ª edición de la estadificación TNM establecida por la American Joint Comittee on Cancer (AJCC) incluyen las metástasis en ganglios infra y supraclaviculares como N3, y tienen en cuenta la afectación metastásica de los ganglios linfáticos de la cadena mamaria interna (AJCC 2002). Debido a la morbilidad de las linfadenectomías axilares, la técnica del ganglio centinela, en tumores infiltrantes, menores de 30 mm, es actualmente el tratamiento de elección en estas pacientes, e implica una evaluación histológica más exhaustiva de la axila, sin incrementar excesivamente el gasto. El tamaño

medio de los tumores de las 9 pacientes en las que no se observó drenaje alguno y en las que la biopsia del ganglio centinela no se pudo llevar a cabo fue de 22 mm, frente a los 18 mm del resto de pacientes, aunque estas diferencias no fueron significativas. No obstante, de esas 9 pacientes, solo una tenía un tamaño superior a los 30 mm y entre las pacientes en las que la técnica fue factible, 34 tenían un tamaño superior a los 30 mm. Con lo que las razones que puedan explicar el fracaso de la técnica en la localización del ganglio centinela parecen no ser debidas al tamaño tumoral.

De la afectación ganglionar metastásica y del número de ganglios afectos, depende la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global de estas pacientes (Mansel et al. 2006). Por ello el estudio del ganglio centinela debe ser meticuloso. Se ha demostrado que si se realizan al menos 9 cortes de parafina a intervalos de 250 micras, teñidos con citoqueratina en uno de cada tres cortes, la detección de micrometástasis alcanza el 100% de los casos. La presencia de micrometástasis (nidos tumorales > de 0.2 mm y < de 2 mm), se asocia con una ligera disminución de la supervivencia libre de enfermedad y/o global, lo que no se ha demostrado para la presencia de células tumorales aisladas (células sueltas o nidos < de 2 mm) (Harris et al. 2004).

En los carcinomas lobulillares, se recomienda la realización de técnicas de inmunohistoquímica con anticuerpos anti-citoqueratina, para demostrar pequeños focos metastásicos en los ganglios, que debido a la morfología bien diferenciada y a su discohesividad, se podrían confundir con histiocitos (IARC 2003).

3. ADAPTACIÓN A LOS CONSENSOS

La biopsia selectiva del ganglio centinela es una técnica diagnóstica útil en el manejo del carcinoma de mama que se ha introducido en la práctica clínica con una gran difusión y aceptación. Su aplicación permite realizar una adecuada estadificación de la enfermedad con una menor morbilidad. No obstante, en la actualidad, existen numerosas variaciones metodológicas en su ejecución pendientes de ser contestadas en ensayos e investigaciones en curso. Aunque existe una guía de referencia para esta técnica de la American Society of Clinical Oncology (ASCO) del año 2005, en el ámbito nacional se han realizado varias reuniones bajo los auspicios de la Asociación Española de Cirujanos y la Sociedad Española de Oncología Quirúrgica. La última Reunión de Consenso en nuestro país, organizada por la Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria, tuvo lugar en Mayo de 2013. Dado que la presente Tesis Doctoral trata sobre la aplicación de la técnica contemplada en dichos consensos, en la siguiente sección se analizará la adaptación a los mismos y la evolución temporal de diferentes aspectos.

Según dicho panel de expertos la biopsia selectiva del ganglio centinela "*es el procedimiento de elección para la estadificación regional (axilar) del cáncer de mama y permite seleccionar un subgrupo de pacientes en los que la linfadenectomía axilar no aporta ningún beneficio adicional*". En cuanto a los criterios de indicación y contraindicación se sostiene la postura de que es recomendable el diagnostico histológico de carcinoma para indicar la realización de la técnica. También se contempla su indicación en casos cuyas pruebas de imagen sean altamente sugestivas de carcinoma y citología compatible con carcinoma. El hecho de que en nuestra serie existieran pacientes con lesiones benignas en la anatomía patológica definitiva demuestra la importancia de esta recomendación, ya que en nuestro caso todas ellas fueron sometidas innecesariamente, si no a la biopsia quirúrgica del ganglio, al menos sí a la inyección del trazador y realización de gammagrafía posterior.

Las indicaciones de la biopsia del ganglio centinela han sufrido modificaciones con los distintos consensos al demostrarse la utilidad de la técnica y la

posibilidad de aplicarla en diferentes tipos de pacientes. Así por ejemplo, se han establecido los siguientes **criterios de indicación de la técnica en caso de carcinoma infiltrante** (Bernet et al. 2014):

- Se recomienda en carcinomas infiltrantes T1 y T2 siempre que la axila sea clínica, ecográfica y patológicamente (si procede, ya sea cito o histológicamente) negativa.

En la siguiente revisión del año 2013 se incluyeron también las pacientes con T3 (tumor primario hasta 50 mm). En nuestro trabajo, a todas las pacientes a las que se les realizó con éxito la extirpación del ganglio centinela (n = 327) estaban estadiadas inicialmente como T1 o T2. En este punto, cumplimos con las recomendaciones publicadas.

Respecto a las indicaciones en caso de **carcinoma intraductal** se recomienda realizar la técnica en:

- los casos con indicación de mastectomía.

- los casos de alto riesgo para micro-infiltración o infiltración en base a: tamaño tumoral mayor de 30 mm, tumores palpables, alto grado histológico y presencia de comedonecrosis.

En nuestra serie de pacientes estudiadas se incluyeron 22 casos de mujeres con carcinoma in situ. La media del tamaño tumoral en este subgrupo fue de 26 mm (5-60mm), que supera al tamaño medio del resto de la serie (19 mm) siendo las diferencias observadas estadísticamente significativas ($p<0.0001$). A pesar de que el tamaño tumoral medio fue mayor, y que a mayores dimensiones del mismo más probabilidad de afectación metastásica axilar, (no solo en el caso de los infiltrantes sino que en los in situ aumenta también la probabilidad de micro-infiltración), en nuestras pacientes con carcinoma intraductal no se detectó ningún caso de metástasis en los ganglios centinelas ni se realizó una linfadenectomía axilar posterior. Nuestros resultados concuerdan con los descritos en la literatura sobre la frecuencia de afectación metastásica axilar en los casos de carcinoma in situ detectados de forma post-

operatoria, que reportan unos valores de entre el 0 y el 4% (Fancellu et al. 2012; Zetterlund et al. 2014).

También se establece de forma consensuada que no existe ningún motivo para no recomendar la técnica en los **varones o mujeres embarazadas**, aunque en estas últimas están desaconsejados los colorantes. Durante la recogida de los casos estudiados en esta Tesis Doctoral no se presentó ningún caso de cáncer de mama en pacientes varones ni en embarazadas. Aún así, es de destacar la ventaja que ofrece la inyección desarrollada de nuestro trabajo, pues la dosis de radiación administrada es menor del valor mínimo recomendado inicialmente (Consenso_de_Salamanca 2001).

Respecto a la **multifocalidad o multicentricidad**, en el consenso de 2013 se establece que estas condiciones "*no constituyen criterios de contraindicación con un nivel de evidencia I".* La opinión de los expertos sobre la realización de la técnica en este tipo de pacientes ha ido cambiando a lo largo del tiempo, ya que en un principio se consideraba un subgrupo de alto riesgo de falsos negativos y no se contemplaba la indicación de la misma. Es por ello que en nuestra serie solo se incluyó un caso con dichas características, que tras el análisis anatomopatológico resultó ser un tumor multicéntrico con al menos 9 focos tumorales de entre 4 y 14 mm. Se detectó un único ganglio centinela afectado por micrometástasis, y se realizó un linfadenectomía axilar en un segundo tiempo en la cual se encontraron 18 ganglios sin evidencia de malignidad.

La evidencia científica internacional avalada por los consensos ya comentados, no encuentra contraindicación de la técnica en este tipo de casos: la ventaja de nuestro método para la realización de la misma es la administración de una sola inyección que no precisa localización de todas las lesiones por métodos de imagen (Armas et al. 2005).

*- La realización de una **biopsia escisional** previa no contraindica la realización de la biopsia el ganglio centinela siempre que no aparezcan criterios de exclusión.*

Un total de 11 pacientes tenían historia de tumorectomía previa, y 2 pacientes habían sido sometidas a una exéresis benigna con anterioridad. En todos los casos la biopsia del ganglio centinela pudo realizarse con éxito, por lo que nuestra técnica parece adaptarse también a este criterio de indicación, con la ventaja añadida de que la ausencia de tumor o lesión primaria no impide la realización habitual de la inyección en la región subareolar.

*- En los casos de **cirugía mamaria plástica de aumento o reducción previa** no existe evidencia para contraindicar la biopsia del ganglio centinela.*

Dos pacientes de las 327 a las que se le realizó con éxito la extirpación del ganglio centinela tenían historia de mamoplastia. Estamos de acuerdo en que nuestra técnica no parece estar contraindicada en este tipo de enfermas.

*- En casos de recidiva local del cáncer de mama, en pacientes con **cirugía conservadora con biopsia del ganglio centinela previa por carcinoma**, no hay evidencia para contraindicar una nueva biopsia del ganglio centinela aunque es aconsejable la valoración individual de cada caso.*

En nuestra serie no se incluyeron pacientes de las consideradas arriba.

En cuanto a la aplicación de la técnica en pacientes que van a recibir **quimioterapia neoadyuvante,** cabe distinguir dos situaciones diferentes:

- En pacientes con axila clínica/ecográficamente negativa de inicio (cN0), puede realizarse la técnica tanto antes como después del tratamiento sistémico primario.

- En pacientes cN1/N2 de inicio con negativización clínica y ecográfica de la axila tras la neoadyuvancia (cyN=), puede realizarse la biopsia del ganglio centinela y evitar la linfadenectomía axilar si el ganglio centinela es negativo. Sin embargo, series recientes aportan resultados controvertidos al respecto, por la alta tasa de falsos negativos secundarios a la terapia sistémica primaria.

Como ya se ha comentado anteriormente en el momento de la recogida de las pacientes que integran este trabajo, las indicaciones de la técnica eran muy restringidas, y tampoco se aceptaba la realización de la misma en estos casos, por lo que con nuestra serie no podemos aportar ninguna experiencia al respecto.

Por otro lado, a lo que sí hubo adhesión desde un principio, fue a los criterios de exclusión, que en la actualidad han quedado reducidos básicamente a los siguientes:

1. Verificación preoperatorio de afectación ganglionar con ecografía y al menos citología de las adenopatías sospechosas con diagnóstico compatible con metástasis de carcinoma.
2. Carcinomas inflamatorios
3. Radioterapia axilar previa a dosis de 50Gy
4. Carcinoma localmente avanzado con afectación ganglionar en ausencia de tratamiento sistémico primario.

Nuestras pacientes no tenían ninguno de esos criterios de exclusión.

A la vista de lo recomendado por la Asociación Española de Senología y Patología Mamaria en esta última guía consensuada de 2013, el diseño metodológico en cuanto a la selección de pacientes se ajusta estrictamente a lo recomendado por los expertos, y hace referencia a diferentes aspectos que permiten comparar la técnica empleada en esta Tesis con las utilizadas por otros grupos de trabajo.

Consideraciones acerca de aspectos relativos a la Medicina Nuclear (Bernet et al. 2014):

- La técnica imprescindible incluye el uso de radiotrazador como marcador del ganglio. Es aceptable utilizar la técnica mixta (radiotrazador más colorante), sobre todo, en periodo de aprendizaje y en aquellos casos con dificultades de

visualización en la linfogammagrafía preoperatoria. Se desaconseja la técnica con el uso exclusivo de colorante.

Tal y como se ha descrito en la sección metodológica, se hizo uso exclusivo del radiotrazador, sin utilizar colorante ni siquiera para el período de aprendizaje.

- Los trazadores isotópicos recomendables son el nanocoloide de albúmina, el coloide de estaño y el sulfuro de renio, personalizando en cada paciente y citándolo en el consentimiento informado específicamente si el producto no estuviese autorizado para esta indicación clínica.

En el presente trabajo se ha utilizado Nanocoll®, que como ya se ha descrito son partículas de albúmina de tamaño coloidal. Las pacientes fueron adecuadamente informadas y firmaron el preceptivo consentimiento.

- La actividad total administrada oscilara entre 18,5 y 111 MBq (0,5 y 3 mCi) inyectados entre las 2 y 24 horas antes de la cirugía.

Tal y como se describe en la sección metodológica, se inyectaron 29.6 MBq que equivalen a 0.8 mCi hasta un máximo de 3 horas antes de la intervención.

- La localización anatómica de la inyección del radiotrazador será, preferiblemente, intra-peritumoral. La inyección periareolar y/o subdérmica, también serian una opción de inicio. En el caso de carcinomas de mama multifocales o multicéntricos, se considera aceptable la inyección periareolar, al igual que la intradérmica en el cuadrante que albergue a las lesiones (en el caso de lesiones multifocales), o el uso de inyecciones intra o peritumorales en cada lesión, de acuerdo con las características de cada enferma y con los procedimientos establecidos en los comités de mama de cada centro.

Es en este punto donde radica la principal novedad de esta Tesis Doctoral, ya que no hemos seguido en absoluto las recomendaciones dadas en ninguno de los consensos anteriores, con la intención de desarrollar una variante de la técnica de la biopsia del ganglio centinela que sea fácil de realizar, eficiente y

segura para las pacientes. En nuestra serie, todas las pacientes recibieron una inyección única del radiotrazador en localización subareolar con la misma actividad y en el mismo volumen, independientemente de donde estuviera localizado el tumor y de si era palpable o no. No se realizaron inyecciones múltiples ni se hicieron variantes del protocolo, a excepción de la reinyección en los casos en los que no se observó drenaje de entrada. Los resultados, tal y como se han expuesto, demuestran que la técnica es factible y que puede ser usada de rutina, presentando importantes ventajas frente a otras variantes de la misma.

- Seria recomendable en las lesiones no palpables, e imprescindible en la técnica de SNOLL (sentinel node and occult lesion localization), realizar la inyección intra-peritumoral del trazador de forma asistida por métodos de imagen (ecografía o estereotaxia).

No se realizó técnica de SNOLL en nuestra serie de pacientes.

- En los casos de lesiones no palpables sin posibilidad de asistencia con métodos de imagen, lesiones ya extirpadas o lesiones cercanas anatómicamente a la región axilar, se recomienda la inyección periareolar, pericavitaria o intradérmica del trazador.

En este tipo de pacientes nuestra técnica también presenta múltiples ventajas, ya que la inyección se realiza en la región subareolar independientemente de la localización del tumor, de si es palpable o no y de si la lesión ha sido extirpada previamente. Ya se ha comentado con anterioridad que los casos en los que el tumor está localizado cerca de la región axilar, la posibilidad de inyectar en la región subareolar que ofrece nuestra inyección, solventa el inconveniente del fenómeno de "*shine through*".

- Es imprescindible la realización preoperatoria de una linfogammagrafía en el periodo post-inyección del radiotrazador, con la finalidad de confirmar la migración y evidenciar drenajes extra axilares. Se debe realizar lo más cerca posible del momento de la intervención. En caso de no migración y no

visualizar el drenaje a la región axilar, se recomienda la reinyección del trazador, el mismo día, con cualquiera de las técnicas citadas a tal efecto.

Tal y como se describe en la sección metodológica de esta Tesis Doctoral, a las pacientes se les realizó una linfogammagrafía en el periodo post-inyección. De las 348 pacientes inyectadas, no observamos migración del radiotrazador en 9 de ellas, a pesar, de que tal y como se recomienda se realizó la reinyección en todas. Esos 9 casos de ausencia de drenaje y los otros tres en los cuales a pesar de tener un ganglio visible en la gammagrafía no se consiguió extirpar en quirófano, suman un total de doce pacientes en las cuales la técnica no fue capaz de identificar el ganglio centinela (Eficacia técnica = 96.3%). Este valor supera con creces las recomendaciones internacionales, como las propuestas por la American Society of Clinical Oncology en 2005, en la que se proponía como adecuado un valor superior al 85% (Moncayo et al. 2013).

- En caso de disponer de equipos SPECT-CT, se aconseja el uso de imágenes fusionadas si no se identifica en ganglio centinela en la linfogammagrafia convencional, o cuando se prevea que una localización anatómica más precisa pueda simplificar significativamente la intervención quirúrgica, como en de ganglios con aparente bajo contaje o ganglios extraaxilares.

Aunque el Servicio de Medicina Nuclear del CHUIMI cuenta en la actualidad con la posibilidad de realizar SPEC-CT, no se contaba con dicha tecnología durante el reclutamiento de esta serie de pacientes. Es una mejora que podría ser introducida para optimizar los resultados obtenidos, aunque el hecho de que no se observara drenaje en solo el 2.6% de las pacientes incluidas en el estudio, nos plantea la verdadera utilidad del SPEC-CT en comparación con la complejidad añadida al protocolo, que podría reservarse sólo para determinadas ocasiones (ausencia de drenaje tras la reinyección).

- Aunque no es imprescindible para la realización de la técnica, salvo en el caso de que se empleen gamma-cámaras intraoperatorias, es muy recomendable la asistencia en el quirófano de un medico nuclear con

experiencia y, a ser posible, específicamente aquel que se haya encargado de la inyección del radiotrazador y la obtención de las imágenes gammagráficas.

A pesar de que esto es solo una recomendación, el médico nuclear, que este caso es la Doctoranda que suscribe, estuvo presente en muchas de las intervenciones quirúrgicas, asistiendo al cirujano en la localización e identificación de los ganglios centinelas y secundarios.

- *La realización de un estudio PET-CT con 18FDG no está indicada en la estadificación de la axila como sustituto de la biopsia del ganglio centinela. Si se hubiera realizado le exploración por otro motivo (pre-neoadyuvancia, dudas en el estadio M, etc.) y se observara la existencia de ganglios hipermetabólicos, se recomienda confirmación patológica. En caso de no confirmación o negatividad, se indica biopsia del ganglio centinela.*

No es el caso de las pacientes de nuestra serie.

A la vista de lo reseñado anteriormente, y de las recomendaciones dadas por los expertos en los sucesivos consensos, podemos decir que en líneas generales los criterios de indicación, exclusión y consideraciones especiales de nuestra técnica son los mismos que para otras variantes de la biopsia del ganglio centinela, con excepción hecha de las variantes metodológicas propias del diseño de esta Tesis Doctoral. El fracaso en la técnica en esas 9 pacientes iniciales, en las que no se observó drenaje, no puede ser achacado a nada en particular, ya que se ajustaban a las recomendaciones dadas y no parecen tener nada en común entre ellas que las diferencie del resto. Lo mismo ocurre para esas 3 pacientes en las que la extirpación no fue posible, que podría ser atribuible al decaimiento de la actividad del radiotrazador. A pesar de lo anterior la técnica fuera factible en 317 de las 329 pacientes con carcinoma, lo que supone un porcentaje de éxito del 96.3%, que es bastante alto teniendo en cuenta la heterogeneidad de enfermas incluidas.

La linfadenectomía era el procedimiento estándar de estadificación axilar hasta el momento de la aparición de la biopsia del ganglio centinela. En las primeras

series que validaron los resultados dicho procedimiento sustituía a la linfadenectomía sólo en caso de ausencia de enfermedad metastásica en los ganglios axilares. La detección de algún foco de malignidad, incluyendo las micrometástasis, aconsejaba el vaciamiento axilar con vistas a incrementar la supervivencia de las pacientes (Salamanca 2001). Según el último consenso de 2013, existen estudios recientes que sugieren una revisión de los criterios diagnósticos asociados al ganglio centinela con vistas a indicar una linfadenectomía axilar, ya que el valor "*carga tumoral*" parece ser más predictivo de afectación axilar que los grupos pronósticos definidos en el TNM-7º edición, que diferencia entre células tumorales aisladas, micrometástasis y macrometástasis. (SESPM 2010)

De esa forma, en la actualidad, no constituirían indicación de linfadenectomía axilar los casos con **baja carga tumoral** o **perfil de bajo riesgo**, de acuerdo a las definiciones siguientes:

- Se considera perfil de "baja carga tumoral" el caso en el cual el sumatorio de copias de cada uno de los ganglios estudiados es igual o inferior a 15.000 copias de mARN-CK19. En base a los estudios publicados, una carga tumoral de 10.000-15.000 copias corresponde a una probabilidad de axila no afectada o libre de metástasis de un 85%, aunque puede disminuirse la probabilidad estableciendo un punto de corte con un valor inferior a las 15.000 copias.
- Se considera perfil de "bajo riesgo" la confluencia de *todos* los siguientes factores:
    - El diagnóstico histológico de células tumorales aisladas o micrometástasis
    - Hasta un máximo de dos ganglios centinelas metastáticos
    - Estatus post-menopáusico
    - Tamaño del tumor primario menor de 30 mm
    - Grado histológico 1 o 2
    - Receptores hormonales positivos
    - Her2 negativo
    - Ki 67 ≤ 14%

- Cirugía conservadora de mama

Teniendo en cuenta lo anterior, en la actualidad constituye indicación de linfadenectomía axilar los casos con más de 10.000-15.000 copias y aquellos con macrometástasis, salvo los de bajo riesgo del tumor primario.

Se ha comentado con anterioridad la modificación de los protocolos de nuestro Complejo Hospitalario en cuanto a las pacientes con afectación micrometastásica del ganglio centinela. De las 26 pacientes con micrometástasis del Hospital Materno-Infantil, sólo 4 fueron sometidas a vaciamiento axilar; mientras que de las 25 pacientes del Hospital Insular un total de 19 tuvieron vaciamiento axilar. De estas 23 pacientes, se halló enfermedad axilar en 6 casos (26%), 4 de los cuales fue en forma de depósitos tumorales menores de 0.2 mm. Esta discrepancia de protocolo podría tener consecuencias en relación a supervivencia de las pacientes entre dos hospitales de un mismo complejo.

- La aplicación de terapias adyuvantes (quimioterapia, radioterapia y/u hormonoterapia) vendrá dictada, fundamentalmente, por las características tumorales y del tipo de cirugía realizada (conservadora o radical) y del resultado de la linfadenectomía en el caso de llevarse a cabo. No existe evidencia suficiente para el tratamiento sistémico de las pacientes con micrometástasis (molecular, HE o IHQ).

En esta Tesis Doctoral no se han recogido datos referidos al tratamiento ulterior de las pacientes.

Por último, en cuanto a los aspectos **relacionados con la validación y estandarización de la técnica**:

- La biopsia del ganglio centinela es una técnica diagnóstica multidisciplinar, que implica la interrelación entre diferentes especialidades médicas y quirúrgicas.

En nuestro medio la técnica se realiza estrictamente con la participación de médicos nucleares, cirujanos y ginecólogos de ambos hospitales y anatomopatólogos. Sin embargo en el Complejo Hospitalario existe desde hace más de quince años el denominado Comité de Mama, constituido por dichos profesionales además de oncólogos médicos y radioterápicos, radiólogos, etc. En dicho comité ese evalúan los casos y se toman las decisiones pertinentes de forma individualizada y de manera multidisciplinar.

- Tradicionalmente, ha sido necesaria una validación de la técnica tanto a nivel del equipo como de cada uno de los especialistas implicados. Dada la experiencia de múltiples grupos en la aplicación clínica es aconsejable que tal validación vaya siendo progresivamente sustituida por un proceso de aprendizaje supervisado en el contexto de un grupo con experiencia.
- Este aprendizaje debería llevarse a cabo con grupos que hayan realizado más de 300 casos de biopsia del ganglio centinela en fase de aplicación clínica (con parámetros de validación definidos en los consensos previos: al menos un 95% de tasa de identificación del o los ganglios centinela, con una tasa de falsos negativos del 5% o menos).

Hemos expuesto con anterioridad que la técnica de la biopsia del ganglio centinela con inyección única subareolar fue validada previamente en una serie de 100 pacientes (Armas et al. 2005). La sensibilidad global de la técnica en esta serie de pacientes fue del 95.65%, la especificidad del 100%, el valor predictivo positivo de 100% y el negativo fue de 96.4%.

Tras la validación de la técnica se aplicó en fase clínica en 348 pacientes, lo que supone una experiencia total del grupo acumulada hasta dicho momento (Junio de 2006) de 448 pacientes. El porcentaje de identificación en gammagrafía fue del 97.3% (320/329), mientras que el porcentaje de extirpación fue del 99.0% (317/320). De entre las 190 pacientes que dieron negativo para metástasis en sus ganglios centinelas, solo 2 dieron positivo en otros ganglios linfáticos, lo que nos da un porcentaje de falsos negativos del 1.5% (2/2+127).

A la vista de los resultados no cabe duda de que nuestra experiencia en la biopsia del ganglio centinela con inyección única subareolar es amplia, y en líneas generales presenta muy buenos resultados.

4. RECEPTORES HORMONALES Y FACTORES MOLECULARES

4.1. RECEPTORES DE ESTRÓGENO Y PROGESTERONA

Otra serie de factores importantes en relación al cáncer de mama, es el estado **de los receptores hormonales**, que son considerados factores pronósticos de tipo biológico/molecular.

La expresión de los receptores hormonales (de estrógenos (RE) y progesterona (RP)), se determina mediante tinciones de inmunohistoquímica y son un poderoso factor pronóstico y predictivo de respuesta a la hormonoterapia, y a la quimioterapia. El 70%-80% de carcinomas muestra positividad para receptores de estrógeno, siendo negativos en los carcinomas apocrinos, medulares, metaplásicos y en más del 90% de los carcinomas poco diferenciados (grado 3).

En nuestra serie, el porcentaje de positividad entre las pacientes a las que se les realizó la determinación fue del 85%, dato que se muestra en consonancia con lo registrado en otros estudios. De entre las pacientes con carcinomas grado 3, un tercio son negativas para la expresión del receptor de estrógenos. En este punto se establece una discrepancia con lo referido en otros estudios. No obstante, en una serie reciente de 11,096 pacientes con cáncer de mama de tipo luminal A (aquel con expresión de RE y/o RP), se puso de manifiesto como principal conclusión la gran heterogeneidad de este subtipo tumoral (Park et al. 2013). En líneas generales, nuestra serie reproduce los resultados observados en esas amplias series de pacientes: tamaño tumoral menor entre las pacientes con receptor de estrógenos positivo (1.7 ± 0.9 vs. 2.2 ± 1.2, p = 0.009), o mejor grado de diferenciación entre las pacientes con RE positivo

(94.2% de las pacientes grado 1 tenían expresión del RE frente al 62.7% entre las pacientes con grado 3, $p < 0.0001$).

La ausencia de receptores hormonales se ha asociado a mayor tasa de recurrencias, menor supervivencia global, mayor riesgo de diseminación a distancia y metástasis cerebrales en el grupo de enfermas sin afectación ganglionar. Sin embargo, existe una gran heterogeneidad en cuanto a agresividad dentro de los carcinomas con receptores hormonales negativos. Cuando los receptores hormonales son negativos en la biopsia pre-quimioterapia, es aconsejable repetir el estudio tras el tratamiento, ya que el muestreo de tejido tumoral en las biopsias por aguja es limitado (Arens et al. 2005). Así mismo, es útil repetir la determinación de receptores hormonales en las metástasis y recidivas locales, ya que el pronóstico en estos casos empeora cuando el tumor inicial fue positivo y en estas recidivas o metástasis se negativiza.

Los análisis de supervivencia se presentan en el siguiente capítulo de esta Tesis Doctoral. No obstante, ninguna de las pacientes de nuestra serie fue sometida a terapia neoadyuvante, y no tenemos datos de expresión de los receptores hormonales en las recidivas que se hayan podido registrar.

Los carcinomas lobulillares infiltrantes muestran un mayor porcentaje de positividad con técnicas de inmunohistoquímica para receptores de estrógeno, que los ductales infiltrantes (70%-95% en el lobulillar frente a 70%-80% en el ductal), pero un menor porcentaje de sobreexpresión de Her2-neu. En nuestra serie, el porcentaje de positividad del receptor de estrógenos determinado por inmunohistoquímica fue del 100% entre los lobulillares y del 86.9% entre los ductales ($p = 0.01$). No obstante, no observados diferencias respecto a la expresión de HER2.

Los receptores de andrógenos, si son negativos, se asocian a un fenotipo de cáncer de mama de alto riesgo (Rakha et al. 2007). En este sentido, no tenemos datos relativos a la expresión del receptor de andrógenos en nuestra serie de pacientes.

4.2. EXPRESIÓN DE HER-2

La sobreexpresión de HER-2 es otro importante factor pronóstico molecular en el contexto del cáncer de mama. La amplificación del proto-oncogen HER-2/neu produce una sobreexpresión de la proteína de membrana HER-2/neu, entre el 15% y el 30% de los carcinomas de mama (Ros et al. 2003). En nuestra serie de pacientes para las que se tenían datos de expresión de HER2, éste aparecía sobreexpresado en el 18.4% de los casos, coincidiendo con los datos previamente publicados. Su presencia indica un peor pronóstico en pacientes con afectación ganglionar y es un importante factor predictivo de respuesta a la quimioterapia con antraciclinas y al tratamiento con el anticuerpo anti HER-2/neu (por ejemplo, trastuzumab). El método de detección es inmunohistoquímico (IHQ) y semicuantitativo, obteniéndose una gradación que va del 1 al 3, si bien se puede determinar también por técnicas de hibridación in situ con fluorescencia (FISH), o su equivalente CISH (chromogenic in situ hybridation). En nuestro caso, la determinación de HER2 se realizó por técnicas inmunihistoquímicas. Si se realizan en cada tumor tanto técnicas de IHQ como de FISH, se observa que en un 23.3 % de casos 2+ con IHQ, existe sobreexpresión del gen con FISH (lo que también ocurre en el 4.1% de casos con IHQ = 0 y en el 7,4 % de casos 1+) (Owens et al. 2004). Se ha establecido por tanto, que sólo en los casos con IHQ 2+ se deben realizar técnicas de FISH (fluorescence in situ hybridation) para detectar la existencia de amplificación génica del HER-2/neu (Ros et al. 2003). Asimismo, se han descrito hasta un 18% de casos 3+ con técnicas de IHQ, que no mostraron sobreexpresión de HER-2 con FISH (Prati et al. 2005). Al igual que con los receptores hormonales, es recomendable repetir la determinación del HER-2 en la pieza quirúrgica, cuando en la biopsia inicial el resultado es negativo (Arens et al. 2005). Se puede realizar tanto en el tumor mamario como en metástasis o recidivas loco-regionales (Gong et al. 2005). De entre las 29 pacientes de la presente serie con sobreexpresión de HER2, 6 fueron clasificadas como 2+, y ninguna tuvo una expresión 3+ del encogen. En ningún caso hubo comprobación del resultado por técnicas alternativas, algo que en la actualidad ya está implementado en nuestro complejo hospitalario.

4.3. ÍNDICE DE PROLIFERACIÓN CELULAR

El índice de proliferación celular es considerado otro factor pronóstico molecular. Si un tumor tiene un índice de proliferación alto, teóricamente es más agresivo. Para medirlo, se puede utilizar el índice mitótico que ha demostrado una elevada correlación pronóstica (van Diest et al. 1992). La determinación inmunohistoquímica de la expresión de MIB-1 o Ki67 es muy simple, y valores altos se correlacionan con mal pronóstico, asociándose a tumores de alto grado histológico, afectación ganglionar o ausencia de receptores hormonales (Railo et al. 1993), pero no ha sido validado en series amplias y prospectivas como factor pronóstico o predictivo de la respuesta a la quimioterapia. En este sentido, el 76.1% de las pacientes con tumores grado 3 tenían Ki67 sobreexpresado (en comparación con el 11.3% entre las pacientes con tumores grado 1, $p < 0.001$) y el 65% de las pacientes con RE negativo tenía sobreexpresión de Ki67 (en comparación con el 22.1% que tenían las pacientes con expresión positiva del RE, $p = 0.001$). No observamos asociación alguna entre el índice de proliferación celular, determinado como la expresión de Ki67, y la afectación ganglionar. En líneas generales, nuestra serie parece seguir los patrones de proliferación previamente reportados.

4.4. OTROS FACTORES

La determinación mediante citometría de flujo de la **Fase S** del ciclo celular y la ploidía de las células tumorales, no está estandarizada, y tiene algunos problemas técnicos que dificultan su interpretación, al igual que ocurre con el **índice de captación de timidina**. Ninguna de estas técnicas para determinar la proliferación celular fue empleada en esta Tesis Doctoral.

Existen una serie de factores pronósticos biológicos y moleculares pendientes aún de validación. La **mutación del gen supresor TP53** se observa entre el 20%-30% de los carcinomas de mama, y se asocia a un pronóstico adverso, y en algunos estudios a resistencia al tratamiento quimioterápico (IARC 2003). En nuestra serie de pacientes, el 20.9% de las pacientes con datos relativos a

p53, mostraron mutación de esta oncoproteína. La repercusión que esto tenga en el contexto de la supervivencia será analizada en el siguiente capítulo de esta Tesis Doctoral.

Por último, se hará una breve reseña al perfil genético. Los recientes estudios genéticos con *microarrays* de **cDNA** demuestran que los carcinomas de mama son una entidad extremadamente heterogénea, y se podrían subclasificar en 5 grupos, según sus diferentes perfiles de expresión genética (dos subtipos de carcinomas de células luminales: A y B; un subtipo de células epiteliales basales, el fenotipo HER2/neu positivo, y los tumores con fenotipo de "células normales"). No obstante, existen estudios que sugieren que los carcinomas con un fenotipo de células basales (que se caracterizan por el perfil inmunohistoquímico "triple negativo" para receptores de estrógeno y progesterona y HER-2, grado histológico III y curso clínico agresivo) y los carcinomas HER2/neu positivos, tienen peor pronóstico (IARC 2003; Esteva and Hortobagyi 2004). Aunque reciente, el perfil genético de los carcinomas mamarios, condicionará el futuro del pronóstico de estos tumores, ya que permitirá estratificar mejor a las pacientes, en los ensayos clínicos y en la evaluación de los nuevos tratamientos dirigidos contra nuevas dianas terapéuticas (Sotiriou et al. 2006). En nuestra serie de pacientes no se llevó a cabo la clasificación molecular de las mismas. Cuando la serie comenzó a recogerse esta nueva clasificación era reciente. Además, no existen datos suficientes de los marcadores como para tener un buen número de pacientes adecuadamente clasificados como para hacer análisis estadísticos fiables.

En resumen, y a la vista de lo discutido arriba, nuestra serie se asemeja bastante a otras series publicadas anteriormente, lo que aporta garantías a la hora de hacer extrapolables los resultados obtenidos. La biopsia selectiva del ganglio centinela con inyección subareolar es una técnica factible en la práctica clínica habitual, en pacientes con indicación y teniendo en cuenta la heterogeneidad de las series de pacientes de cada hospital.

5. ANÁLISIS DEL IMPACTO SOBRE EL PRONÓSTICO DE LA ENFERMEDAD

Las pacientes que componen la serie de la presente Tesis Doctoral fueron revisadas entre los meses de enero y abril de 2013 (n = 448). Se recogieron datos relativos a la supervivencia libre de recaída local (SLRL), supervivencia libre de recaída ganglionar (SLRG), supervivencia libre de metástasis (SLM), supervivencia libre de enfermedad (SLE), supervivencia causa-específica (SCE) y supervivencia absoluta. La media de seguimiento fue de 76.04 ± 19.44 meses (mediana 78.33, rango 0-116).

Tal y como se muestra en la Tabla 28, los ratios de supervivencia a los 5 años superan el 96% para todos los tipos de supervivencia, siendo la supervivencia causa-específica (aquella debida a la enfermedad tumoral) del 97.9%. La supervivencia por cáncer de mama ha mejorado notablemente en los últimos 20 años (anualmente se incrementa la supervivencia por este tumor un 1,4%). Cada año disponemos de mayor información para diagnosticar precozmente y tratar el cáncer de mama, lo que ha permitido que la supervivencia global a los 5 años del diagnóstico de este tumor sea del 82.8% en nuestro país (Eurocare-4), por encima de la media europea y similar a los países con las mejores cifras de supervivencia (Sant et al. 2009). La supervivencia está determinada claramente por el estadio de la enfermedad. Así, según la Base de Datos Nacional sobre Cáncer (*National Cancer Data Base*), la supervivencia a los 5 años para las pacientes en estadio 0 y I es del 93 y el 88%. Ésta desciende al 81 y 74% para los estadios IIA y IIB, 41 y 49% para los estadios IIIA, IIIB y IIIC, y solo del 15% para las pacientes en estadio IV (datos basados en personas que fueron diagnosticadas con cáncer de mama entre los años 2001 y 2002; datos revisados el 26 de febrero de 2013).

Según la última edición de la clasificación TNM para tumores malignos (UICC 2010), un total de 177 pacientes de las 348 de nuestra serie, presentaron estadio 0-I, lo que supone un 50.9% del total. El bajo estadiaje, así como el empleo de la biopsia del ganglio centinela en todas las pacientes de la serie,

están relacionados con la alta supervivencia de las mismas, que supera a los datos oficiales comentados.

Tabla 28. Supervivencia de las pacientes a los 2, 5 y 8 años de seguimiento

	Seguimiento (meses)		
Supervivencia	24	60	96
SLRL	99.7 ± 0.3	98.6 ± 0.7	98.6 ± 0.7
SLRG	99.7 ± 0.3	99.7 ± 0.3	99.7 ± 0.3
SLM	99.3 ± 0.5	97.2 ± 0.1	95.6 ± 1.4
SLE	99.0 ± 0.6	96.2 ± 1.1	95.2 ± 1.2
SCE	99.3 ± 0.5	97.9 ± 0.8	97.0 ± 1.1
SA	98.4 ± 0.7	96.5 ± 0.1	94.6 ± 1.5

Abreviaturas: SLRL, supervivencia libre de recidiva local; SLRG, supervivencia libre de recidiva ganglionar; SLM, supervivencia libre de metástasis; SLE, supervivencia libre de enfermedad; SCE, supervivencia causa-específica; SA, supervivencia absoluta.

Tal y como se muestra en la figura 31, la supervivencia causa-específica es claramente diferente entre las pacientes con estadios 0-I y el resto (p = 0.003). De hecho, el 100% de las pacientes diagnosticadas con tumores en estadios tempranos siguen vivas tras más de 100 meses de seguimiento. Esos resultados se observaron también para la SLM (p = 0.003), SLE (p = 0.007) y SA (p = 0.012); no se observaron diferencias significativas debida a esta segmentación del estadio para la SLRL y la SLRG.

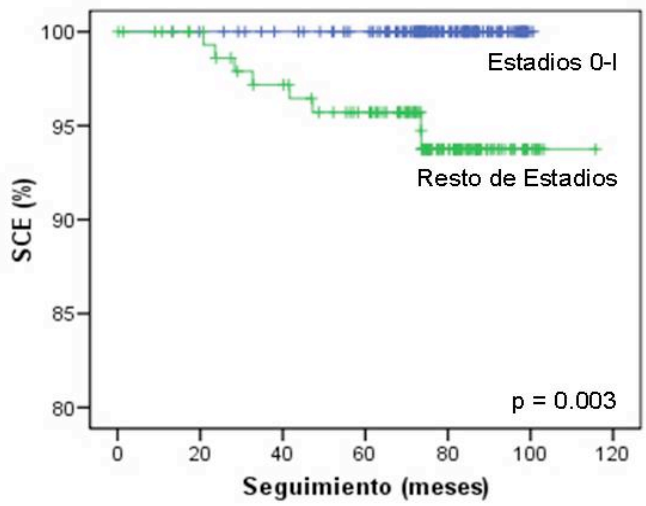

Figura 31. Kaplan-Meier que muestra la supervivencia causa-específica entre las pacientes en estadio 0-I y el resto. La comparación entre los grupos se ha hecho con el test Log-rank.

No observamos diferencias significativas respecto a ningún tipo de supervivencia debido al hospital de procedencia. A pesar de las discrepancias entre los hospitales respecto al protocolo de acción ante la presencia de micrometástasis o las diferencias respecto a la determinación de determinados marcadores moleculares, no parece que esto afecte a la supervivencia de las pacientes.

Tal y como recomienda la Sociedad Americana del Cáncer en sus Guías para la Detección Precoz del Cáncer (Smith et al. 2006), en lo concerniente al tumor, de mama se recomienda el inicio de las mamografías a partir de los 40 años de edad (Saslow et al. 2007). La mamografía se lleva a cabo para examinar a mujeres sanas con el fin de detectar cáncer de mama incipiente, que es cuando es más probable curarlo. En nuestra Comunidad Autónoma, el Programa de Diagnóstico Precoz de Cáncer de Mama se pone en marcha, de manera general, para las mujeres mayores de 50 años. La supervivencia no parece verse modificada por la edad de las pacientes (segmentada la serie en dos grupos: pacientes menores de 50 años vs. pacientes de 50 años o más), sin embargo, sí observamos que las pacientes que acudieron a consulta por un motivo de *screening* presentaron un mayor ratio de supervivencia (Figura 32, p = 0.039). En este sentido, y unido a otros resultados anteriores que mostraban que las pacientes de *screening* presentaban menores tamaños tumorales al

diagnóstico y estadios más precoces de la enfermedad, parece claro que el Programa de Diagnóstico Precoz de Cáncer de Mama es útil para las mujeres de nuestra Comunidad Autónoma, y contribuye a mejorar la supervivencia y por extensión, a disminuir el gasto farmacéutico generado por la enfermedad. No obstante, el papel de la mamografía es controvertido y está comúnmente sujeto a intensos debates. Algunos autores argumentan que la disminución de la mortalidad no compensa la inversión necesaria para mantener operativos los programas de detección precoz y que se tiende a un sobre-diagnóstico de las pacientes (Bleyer and Welch 2012). Además, el impacto que en ocasiones tiene la técnica, en términos de dolor a las pacientes (Whelehan et al. 2013) o de falsos positivos (Bond et al. 2013), se asocia a tasas elevadas de abandono de las mujeres de estos programas de *screening*, con las consecuencias clínicas que esto pudiera acarrear. No obstante, hasta los detractores más acérrimos aceptan que aquellas pacientes que siguen adecuadamente los programas de detección precoz mediante las mamografías programadas presentan ratios de supervivencia superiores a aquellas mujeres que no lo hacen (Gøtzsche and Nielsen 2011), tal y como se muestra además en nuestra serie de pacientes.

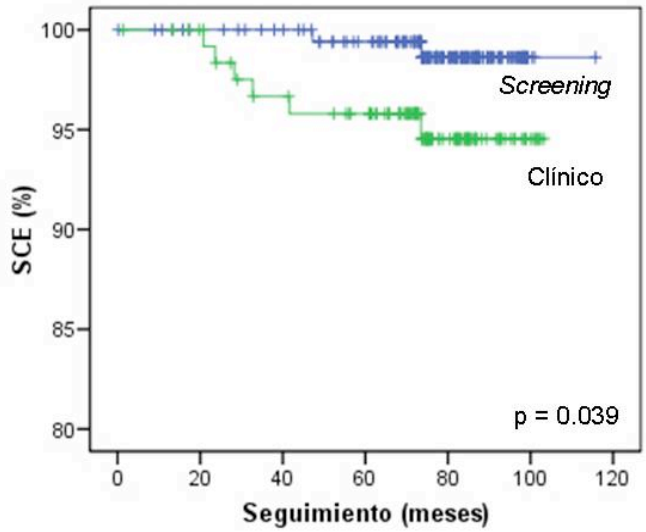

Figura 32. Kaplan-Meier que muestra la supervivencia causa-específica (SCE) entre las pacientes que acudieron a consulta por un motivo de *screening* comparado con aquellas que lo hicieron por un motivo clínico. La comparación entre los grupos se ha hecho con el test Log-rank.

En nuestra serie, un total de 234 pacientes (67.2%) tenían 50 años o más, y por tanto son pacientes que serían candidatas a participar del Programa de Diagnóstico Precoz de nuestra Comunidad Autónoma. De estas 234 pacientes, 88 acudieron a consulta por un motivo clínico (37.6%). Esto es, más de un tercio de este subgrupo fueron diagnosticadas de la enfermedad es su fase clínica, y no en fase de *screening.* Esta observación abre algunas incógnitas acerca del ratio de adhesión de las mujeres de nuestra isla al Programa. La participación de las pacientes a este tipo de programas viene determinada por múltiples factores, incluyendo factores psicológicos y socio-demográficos (Steadman and Rutter 2004; Moser et al. 2009). No obstante, no observamos diferencias de supervivencia de las pacientes en función del motivo de consulta cuando la serie fue segmentada en pacientes menores de 50 años vs. mayores de esa edad. No es objetivo de esta Tesis Doctoral evaluar las tasas de éxito del Programa de Diagnóstico Precoz del Cáncer de Mama de la Comunidad Autónoma de Canarias.

No observamos que la localización del tumor, la mama afectada o el tipo histológico fueran factores determinantes de la supervivencia. El papel del tipo histológico en la supervivencia del cáncer de mama viene a día de hoy determinado profundamente por la expresión de los receptores hormonales y la presencia de otros factores moleculares (HER2 o Ki67), que condicionan el subtipo molecular de este tipo de tumores. La clasificación histológica del cáncer de mama es compleja, con características morfológicas inherentes a cada subtipo tumoral (IARC 2003). Aunque los tipos ductal infiltrante y lobulillar infiltrante son los más frecuentes, cada uno tiene asociado una serie de subtipos que pueden condicionar profundamente el pronóstico y la supervivencia de las pacientes: en nuestra serie no se encontraron diferencias entre la supervivencia de los carcinomas ductales infiltrantes frente a los carcinomas lobulillares infiltrantes.

Respecto a la presencia de micrometástasis, observamos que éstas influenciaban únicamente la SLRG. Así, la supervivencia libre de recaída regional a los 5 años fue del 100% entre las pacientes sin micrometástasis y del 97.8% entre las pacientes con micrometástasis ($p = 0.014$).

La supervivencia de las pacientes de nuestra serie se ve influenciada por la expresión de los receptores hormonales. Así, aquellas pacientes con expresión negativa del receptor de estrógenos (ER-) presentaron una menor tasa de supervivencia causa-específica (Fig. 33, 92.4 vs. 99.1%, respectivamente a los 5 años; p = 0.031). Resultados similares se observaron en relación a la SLRL (94.9 vs. 99.1%, respectivamente; p = 0.038) y la SLRG (97.6 vs. 100%, respectivamente; p = 0.018). No fue significativo para el resto de supervivencias.

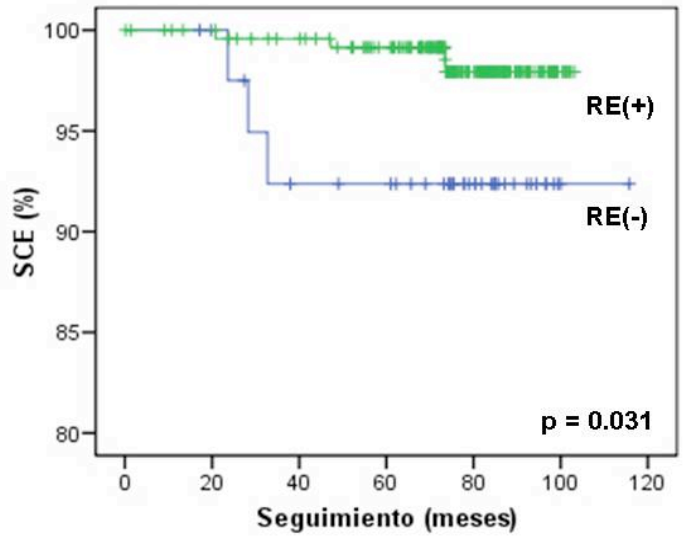

Figura 33. Kaplan-Meier que muestra la supervivencia causa-específica (SCE) entre las pacientes con expresión negativa de receptores de estrógenos (RE-) y aquellas con expresión positiva (RE+). La comparación entre los grupos se ha hecho con el test Log-rank.

Estos resultados se reproducen cuando el receptor analizado es el de progesterona (Fig. 34). Así, la supervivencia a 5 años entre aquellas pacientes RP(-) fue del 92.3%, frente al 99.5% observada entre las pacientes con RP(+) (p = 0.001). Estos resultados se observaron igualmente para la SLRL (p = 0.015), SLM (p < 0.0001) y SLE (p = 0.001).

La ausencia de receptores hormonales se ha asociado a mayor tasa de recurrencias, menor supervivencia global, mayor riesgo de diseminación a distancia y metástasis cerebrales en el grupo de enfermas sin afectación ganglionar. No obstante, aunque estas diferencias de supervivencia parecen

claras a los 5 años, no lo son tanto tras 10 años de seguimiento (Schnitt 2006). Estas observaciones parecen corresponderse con lo observado en nuestra serie. Además, la ausencia en la expresión de estos receptores hace que las pacientes en ese estado no puedan beneficiarse en absoluto de las terapias hormonales (por ejemplo, tamoxifeno), lo que implica una mayor tasa de recaídas y una menor supervivencia.

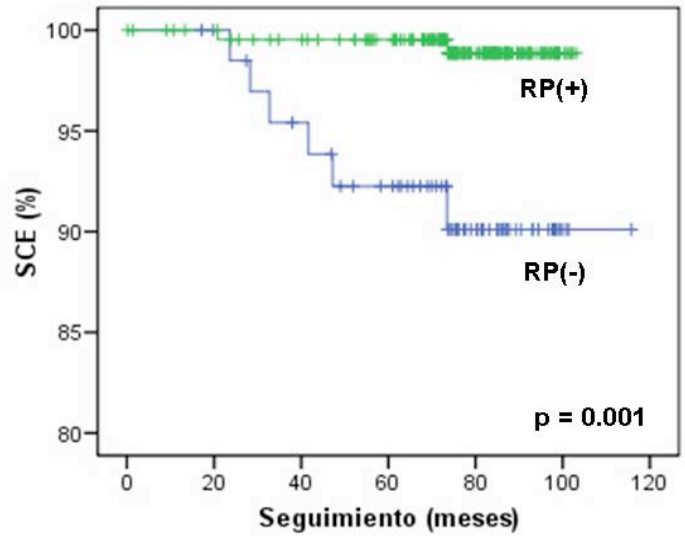

Figura 34. Kaplan-Meier que muestra la supervivencia causa-específica (SCE) entre las pacientes con expresión negativa de receptores de progesterona (RP-) y aquellas con expresión positiva (RP+). La comparación entre los grupos se ha hecho con el test Log-rank.

La sobre-expresión de HER2 se ha asociado con un mayor nivel de proliferación tumoral y una menor supervivencia (Burstein et al. 2008). En nuestra serie, observamos que el 18.5% de las pacientes con HER2 positivo tenían un bajo índice de proliferación (medido por la expresión de Ki67), en comparación con el 47.6% de pacientes con HER2 positivo y altos niveles de Ki67. Esta diferencia de distribución fue estadísticamente significativa ($p = 0.018$). No obstante, no observamos que la expresión de HER2 fuera un factor relacionado con la supervivencia de las pacientes, probablemente debido al bajo número de pacientes con medición de HER2 (45.4% del total de la serie, $n = 158$ pacientes).

No obstante, la determinación de los receptores de estrógenos y progesterona, junto con la de HER2, son fundamentales en la clasificación molecular de los

tumores de mama (Perou et al. 2000). Los estudios de expresión génica llevados a cabo no solo son útiles para clasificar molecularmente a los tumores, sino que se usan para pronosticar la respuesta a los tratamientos y la supervivencia de las pacientes. En este sentido, los tumores considerados “triple negativos”, esto es, RE(-), RP(-) y HER(-) parecen ser los de peor pronóstico (Boyle 2012). Una reciente revisión asocia la presencia de tumores triple negativos a edades más tempranas al diagnóstico (observación que no hemos visto en nuestra serie) y a otros factores de peor pronóstico tales como el grado de diferenciación o el estadio (Boyle 2012). En nuestras pacientes hemos observado que los tumores triple negativos grado 3 suponen el 28.9%, en comparación con el 3.5 y el 3.3% de los triple negativos que son grado 1 o 2, respectivamente ($p < 0.0001$).

Respecto a la supervivencia, se ha observado que este subtipo molecular es el de peor pronóstico, tal y como observamos en nuestra serie de pacientes (Fig. 35). La supervivencia causa-específica a los 5 años fue del 83.3% entre las pacientes con el subtipo molecular triple negativos, frente al 98.6% entre el resto de pacientes ($p = 0.010$). En una reciente revisión, se ha observado que el ratio de mortalidad aumenta hasta los 5 años, manteniéndose estable a partir de ahí (Boyle 2012). Este fenómeno también lo vemos reproducido en nuestros pacientes; así, a los 100 meses, la SCE de las pacientes es del 97.6% entre las pacientes con “otros subtipos moleculares”, frente a ese 83.3% observado a los 5 años y que permanece constante hasta el final del seguimiento que hemos realizado entre las pacientes con subtipo molecular “triple negativo”.

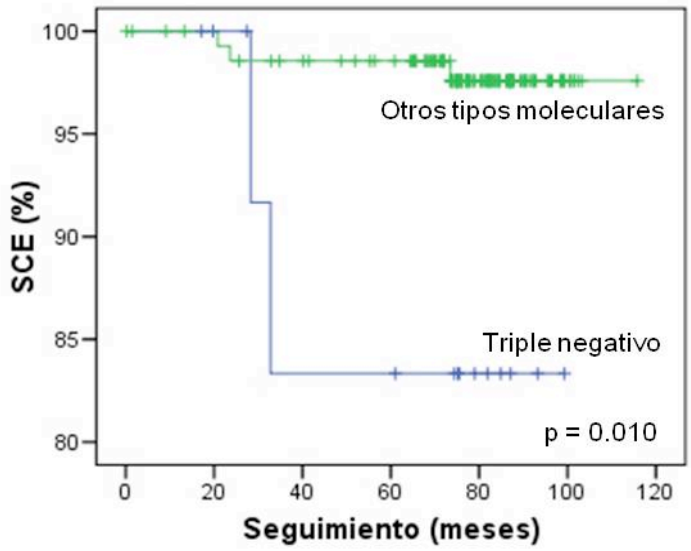

Figura 35. Kaplan-Meier que muestra la supervivencia causa-específica (SCE) entre las pacientes con tumores triple negativo (RE(-), RP(-) y HER(-)) frente al resto de subtipos moleculares. La comparación entre los grupos se ha hecho con el test Log-rank.

Observamos resultados similares en relación a la SLRL, SLRG y SLE (Figura 36). Se ha publicado en una reciente y extensa revisión, que el pico de recurrencias entre las pacientes con tumores de subtipo molecular triple negativo se observa a los 3 años (Boyle 2012). Para valorar las recurrencias de manera general, la variable más apropiada es la supervivencia libre de enfermedad, que agrupa en una única variable las SLRL, SLRG y SLM.

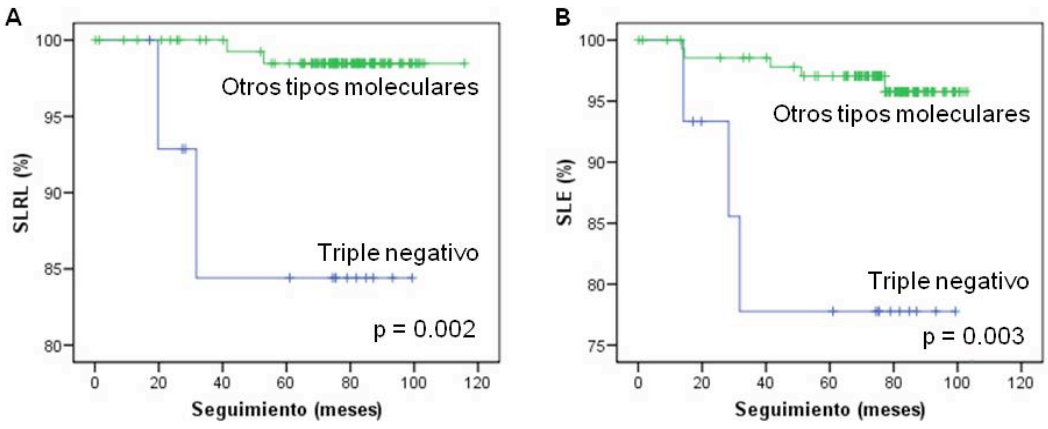

Figura 36. Kaplan-Meier que muestra la (A) supervivencia libre de recidiva local (SLRL) y la (B) supervivencia libre de enfermedad (SLE) entre las pacientes con tumores triple negativo frente al resto de subtipos moleculares. La comparación entre los grupos se ha hecho con el test Log-rank.

Observamos que la SLE entre las pacientes triple negativo a los 3 años (36 meses) fue del 77.8%, y permaneció invariable hasta los 100 meses de seguimiento que tenemos registrados. Entre las pacientes con otros tipos moleculares de tumor de mama, la SLE a los 36 meses fue del 98.6%, a los 60 meses (5 años) fue del 97.1% y a los 100 meses fue del 95.8%. Estos resultados se muestran de acuerdo con lo publicado por otros autores que establecen que el pico máximo de recurrencias entre los tumores triple negativos se observa a los 3 años de seguimiento.

No observamos en nuestra serie de pacientes que la proliferación celular medida como la expresión de Ki67, o la expresión de p53, sean factores que condicionen la supervivencia de las pacientes. Valores altos de Ki67 se correlacionan con mal pronóstico, asociándose a tumores de alto grado histológico, afectación ganglionar o ausencia de receptores hormonales (Railo et al. 1993), pero no ha sido validado en series amplias y prospectivas como factor pronóstico. En este sentido, ya se comentó en el capítulo anterior de esta Tesis Doctoral la relación entre Ki67 y el grado de diferencial tumoral. No observamos asociación alguna entre la expresión de Ki67 y el subtipo molecular triple negativo. Nuestra serie, al igual que otras publicadas, no parece proponer la expresión de Ki67 como factor pronóstico de supervivencia en el cáncer de mama. Algo similar ocurre con p53; aunque la mutación del gen supresor TP53 se asocia a un pronóstico adverso, nosotros no hemos observado esta tipo de asociación en nuestra serie, probablemente debido al bajo número de pacientes con datos acerca del estado de p53 (solo hay datos en 110 de las 348 pacientes, lo que supone el 31.6% de la serie global).

La posible influencia de la invasión vascular y perineural en la supervivencia también ha sido analizada, no observándose ningún tipo de asociación significativa con ningún tipo de supervivencia. Aunque en la bibliografía científica, la invasión vascular/perineural se asocia con frecuencia a la invasión de vasos linfáticos, tal y como hemos visto en nuestra serie de pacientes (ver capítulo anterior), no ha sido demostrado que esta variable se comporte como un factor pronóstico independiente (Harris et al. 2004). En este sentido, nuestra serie se comporta como otras publicadas previamente.

El papel de los ganglios centinelas en la supervivencia de las pacientes fue analizado en profundidad, y los datos se exponen a continuación. Tal y como se expuso en el capítulo anterior, en 339 de las 348 pacientes de la serie se observó la presencia de ganglios centinelas en la linfogammagrafía. No observamos que este hecho (ganglio centinela visto: sí vs. no) sea determinante en la supervivencia de las pacientes, aunque para la SLE, el test de Long Rank arroja una p = 0.065. Aunque no es significativo el resultado, parece que hay una tendencia, donde aquellas pacientes en las que la técnica falló tienen una menor supervivencia. De todas formas, el tratamiento ulterior de este subgrupo de 9 pacientes es determinante para el pronóstico de las enfermas, y no tenemos datos acerca del tratamiento adyuvante de ellas.

De las 339 pacientes en las que se observó la presencia de ganglio centinela en la linfogammagrafía, se realizó extirpación de los mismos en un total de 317 pacientes. No observamos que la variable “ganglio centinela extirpado” (sí vs. no) condicione la supervivencia de las enfermas. Tampoco parece influir el número de ganglios centinelas detectados.

De esas 317 pacientes en las que se realizó la extirpación de ganglios centinelas, se observó la presencia de ganglios metastásicos en un total de 127 enfermas. Tal y como era de esperar, la afección metastásica de los ganglios centinelas condiciona la supervivencia libre de enfermedad de las pacientes (Fig. 37 y 38). La SLE a los 5 años entre las pacientes con ganglios centinelas no metastásicos fue del 98.3%, frente al 93.5% observado entre aquellas pacientes con ganglios centinelas metastásicos (p = 0.030). Resultados similares se observaron para la SLM (p = 0.024) y la SLE (p = 0.030), tal y como se ve en la Figura 36.

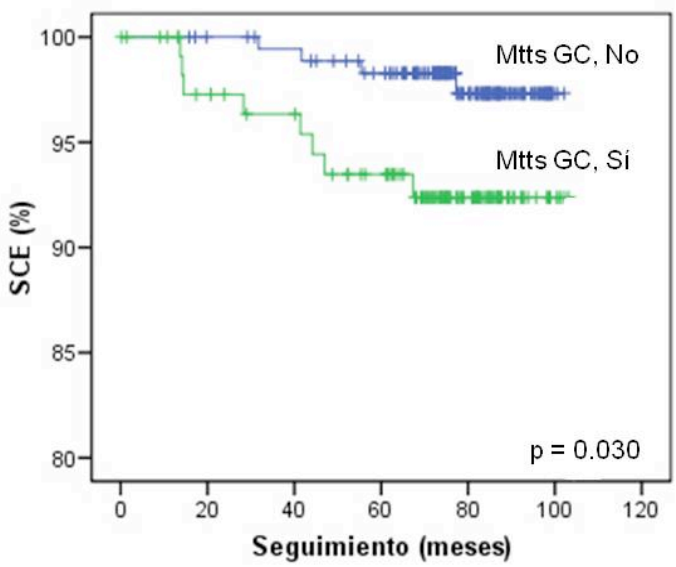

Figura 37. Kaplan-Meier que muestra la supervivencia causa-específica (SCE) entre las pacientes con presencia de ganglios centinelas metastásicos positivos frente a las pacientes con ganglios centinelas negativos. La comparación entre los grupos se ha hecho con el test Log-rank.

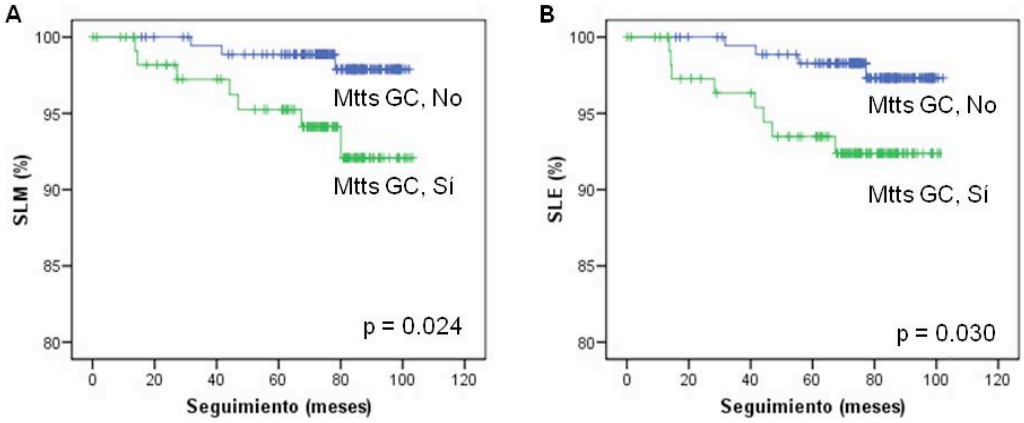

Figura 38. Kaplan-Meier que muestra la (A) supervivencia libre de metástasis (SLM) y la (B) supervivencia libre de enfermedad (SLE) entre las pacientes con presencia de ganglios centinelas metastásicos positivos frente a las pacientes con ganglios centinelas negativos. La comparación entre los grupos se ha hecho con el test Log-rank.

El número de ganglios centinelas positivos (1 vs. 2 o más de 2) no se mostró como un factor determinante para la supervivencia de estas pacientes.

De manera clásica, la afección de los ganglios linfáticos se considera uno de los factores pronósticos más importante para la supervivencia de las pacientes con cáncer de mama (Zarebczan Dull and Neuman 2013). La presencia de ganglios centinelas metastásicos implica la linfadenectomía axilar y un tratamiento adyuvante diferente a la de aquellas pacientes sin afectación ganglionar (N0). De la afectación ganglionar metastásica y del número de ganglios afectos, depende la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global de estas pacientes (IARC 2003). En nuestra serie, la afectación ganglionar determina la SLE, la SCE y además, la SLM. No observamos que el número de ganglios centinelas afectos condicione la supervivencia de nuestra serie, muy probablemente debido al bajo número de pacientes con más de 2 ganglios linfáticos afectos (solo 11 pacientes de las 128 con ganglios centinelas metastásicos).

El papel de los ganglios centinelas en la mamaria interna constituye un nuevo campo de investigación, con resultados no definitivos y consecuencias clínicas poco claras. El drenaje no axilar de la mama es un hecho demostrado, que puede darse en aproximadamente un tercio de las pacientes con cáncer de mama (Cody 2010), aunque otros autores han reportado porcentajes inferiores (Gallegos-Hernández and Melhado-Orellana 2002). En nuestra serie observamos la presencia de drenaje extra-axilar en 16 pacientes, lo que supone menos de un 5% de los ganglios centinelas observados por linfogammagrafía. Esta disparidad puede ser debida a la técnica empleada para la detección del ganglio centinela. Es probable que la inyección subareolar conlleve un drenaje mayoritario hacia la axila, en detrimento, por motivos puramente anatómicos, del drenaje a la cadena mamaria interna. No obstante, la importancia clínica que tienen los ganglios linfáticos de la cadena mamaria interna no está clara. Las metástasis en el ganglio centinela de la cadena mamaria interna se presentan en solo el 3% de las pacientes. En la revisión histórica de Freedman y cols. (Buchholz 2000), a pesar de que el tratamiento de la cadena mamaria interna con cirugía o radioterapia no mejoró la supervivencia, el control loco-regional, ni cambió el patrón de recurrencia en cáncer de mama, los autores concluyeron que probablemente exista un subgrupo de pacientes con ganglios de la cadena mamaria interna positivos y

tumores en los cuadrantes internos en los que este tratamiento podría incrementar la supervivencia. No obstante, aún no existe evidencia que sustente el tratamiento de la cadena mamaria interna y se ha reportado que la biopsia del ganglio centinela en la cadena mamaria interna cambia la terapéutica en sólo 3% de las pacientes (Rutgers and Nieweg 2000). En nuestra serie, la presencia de drenaje a la cadena mamaria interna no fue un factor condicionante de supervivencia. Dado el bajo número de pacientes, no se puede concluir nada respecto a este punto más allá del hecho relevante de que solo observamos drenaje a esta región anatómica en menos del 5% de las pacientes, valor inferior al reportado por otros autores.

El papel de los ganglios no centinelas en la supervivencia de la enfermedad también fue analizado en esta serie de pacientes. Observamos que la presencia de ganglios no centinelas metastásicos fue un factor determinante para la supervivencia libre de metástasis (Figura 39).

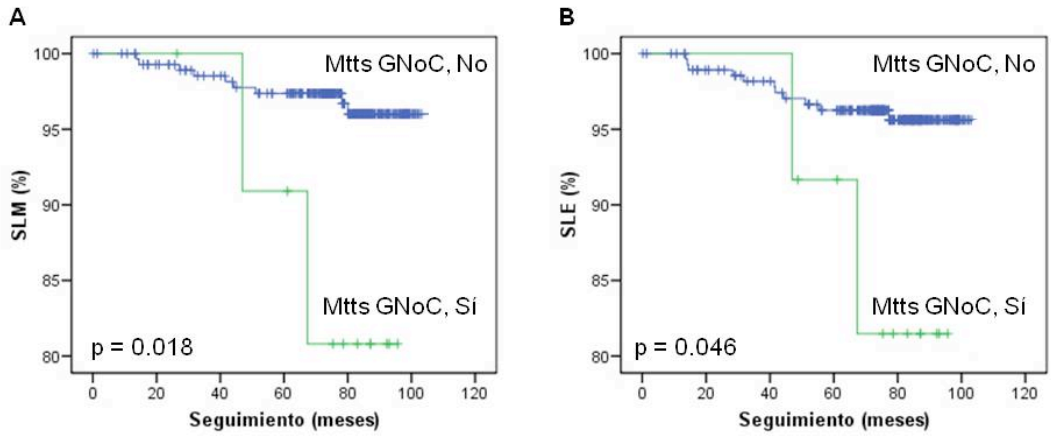

Figura 39. Kaplan-Meier que muestra la (A) supervivencia libre de metástasis (SLM) y la (B) supervivencia libre de enfermedad (SLE) entre las pacientes con presencia de ganglios no centinelas metastásicos positivos frente a las pacientes con ganglios no centinelas metastásicos negativos. La comparación entre los grupos se ha hecho con el test Log-rank.

Así, la SLM a los a los 5 años entre las pacientes con ganglios no centinelas negativos (no metastásicos) fue del 97.4%, mientras que entre las pacientes con ganglios no centinelas metastásicos esta supervivencia fue del 90.9%, disminuyendo al 96.6 y 80.8% respectivamente a los 100 meses de

seguimiento (p = 0.018). El mismo patrón se observó para la SLE (p = 0.046), no objetivándose este comportamiento para el resto de supervivencias consideradas. Este resultado se muestra de acuerdo con los expuestos hasta el momento y con lo publicado en la bibliografía, que establece la afección ganglionar como uno de los principales factores predictivos de recaída de la enfermedad (SLE), especialmente, de las metástasis (Wallgren et al. 1976; Rosen et al. 1981; Atkinson et al. 1986).

No detectamos diferencias respecto a la supervivencia en relación al número de ganglios no centinelas metastásicos, probablemente debido a que la mayoría de las pacientes presentaban un único ganglio afectado y solo unas pocas tenían 2 o más de 2. No obstante, la bibliografía científica establece que el número de ganglios linfáticos afectos condiciona la supervivencia (Xiao et al. 2005), aunque el número de ganglios afectos que marca la diferencia de supervivencia es de 6 o 7 (Adachi et al. 1994). Estos valores no se observaron en ningún caso en nuestra serie de pacientes, donde tal y como se ha detallado en el capítulo anterior, solo una paciente mostró metástasis en 3 ganglios no centinelas, ninguna paciente lo hizo en 2 y 11 pacientes la mostraron en un único ganglio. Además, el número de ganglios linfáticos extirpados parece condicionar la supervivencia, de tal manera que a mayor número de ganglios analizados (con independencia de que estén afectos o no) mejor supervivencia (Le Voyer et al. 2003). A este respecto, tampoco observamos que el número de ganglios no centinelas extirpados condicione la supervivencia de las pacientes de nuestra serie, probablemente debido a que el número de enfermas con más de dos ganglios no centinelas extirpados fue muy bajo, tal y como se ha detallado en el capítulo anterior.

Por último, se evaluó el papel del vaciamiento axilar entre las pacientes de nuestra serie. Se observó que aquellas pacientes a las que se le había realizado vaciamiento axilar presentaban una supervivencia causa-específica menor que aquellas pacientes a las que esta intervención quirúrgica no se les había realizado (Figura 40). Este resultado muestra cómo, a pesar de llevarse a cabo la extirpación de los ganglios linfáticos, la afección metastásica de los mismos *per se* es lo suficientemente negativa como para condicionar la

supervivencia (p = 0.007). Resultados similares se observaron para la SLM (p = 0.002) y SLE (p = 0.015); no observándose influencia alguna sobre la SLRL y la SLRG.

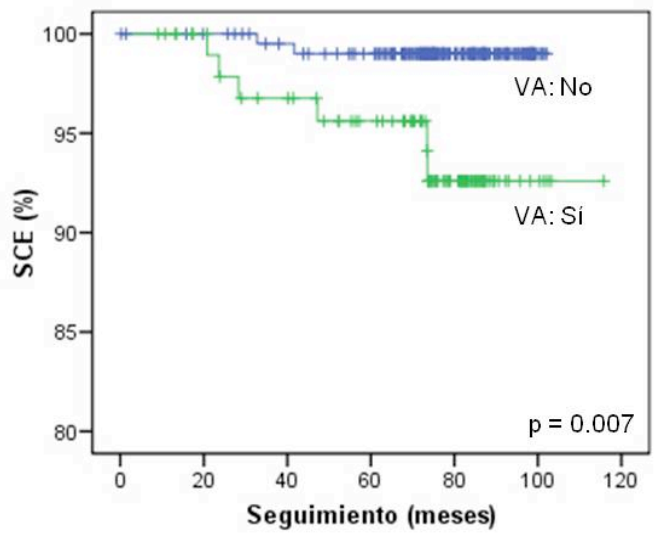

Figura 40. Kaplan-Meier que muestra la supervivencia causa-específica (SCE) entre las pacientes a las que se les realizó vaciamiento axilar (VA) y a las que no. La comparación entre los grupos se ha hecho con el test Log-rank.

Este resultado no significa que el vaciamiento axilar aumente la supervivencia entre aquellos pacientes con afectación ganglionar; esto es, pacientes N+ a las que no se les realice el vaciamiento axilar tendrán una supervivencia menor en términos de SCE, aunque no parece contribuir demasiado al control local de la enfermedad, tal y como hemos observado en esta Tesis Doctoral (Giuliano et al. 2011).

El empleo de la inyección subareolar para la biopsia del ganglio centinela en las pacientes con cáncer de mama en estadios iniciales es útil, y lo demuestra el hecho de que nuestra serie parece comportarse como la mayoría de series de pacientes con cáncer de mama publicadas en la bibliografía, siendo determinantes para su supervivencia los factores clásicos de supervivencia expuestos y discutidos con anterioridad.

Por último, se llevó a cabo una comparativa de la supervivencia entre la serie de pacientes empleada para la validación de la técnica de biopsia del ganglio centinela con inyección única subareolar y la serie clínica empleada después.

Para ello, durante los meses de marzo y abril de 2013, se revisó la supervivencia de las 100 pacientes en las que se validó la técnica, y se comparó con las 348 que conforman la fase de aplicación asistencial de la misma.

Para realizar dicho análisis se recogieron datos relativos a la supervivencia libre de recaída local (SLRL), supervivencia libre de recaída ganglionar (SLRG), supervivencia libre de metástasis (SLM), supervivencia libre de enfermedad (SLE), supervivencia causa-específica (SCE) y supervivencia absoluta (SA). Así, la media de seguimiento fue de 107.20 ± 30.80 meses (mediana 116.00, rango 11-142), lo que supone una mediana del seguimiento de 9.7 años.

Tabla 22. Supervivencia de las pacientes a los 2, 5 y 10 años de seguimiento de la serie de validación

	Seguimiento (meses)		
Supervivencia	24	60	120
SLRL	100	100	100
SLRG	100	100	100
SLM	100	100	98.6 ± 1.4
SLE	100	100	98.6 ± 1.4
SCE	100	100	98.6 ± 1.4
SA	98.8 ± 1.2	97.5 ± 1.7	93.2 ± 2.9

Abreviaturas: SLRL, supervivencia libre de recidiva local; SLRG, supervivencia libre de recidiva ganglionar; SLM, supervivencia libre de metástasis; SLE, supervivencia libre de enfermedad; SCE, supervivencia causa-específica; SA, supervivencia absoluta.

Los ratios de supervivencia de las pacientes son muy buenos, lo que puede deberse principalmente a que este grupo de pacientes pertenecientes a la fase de validación era muy seleccionado: se trataba de tumores de pequeño tamaño

(menores de 30 milímetros), N0, M0 (Armas et al. 2005). Además, todas las pacientes fueron tratadas con cirugía, biopsia del ganglio centinela y linfadenectomía axilar, lo que asegura un control local y a distancia muy elevado. No obstante, tal y como acaba de publicarse en un ensayo fase 3 randomizado, solo la biopsia del ganglio centinela puede ser suficiente para asegurar dicho control en pacientes con cáncer de mama en estadios iniciales, manteniendo la misma supervivencia que en el caso del linfadenectomía pero reduciendo las complicaciones secundarias derivadas de la misma (Galimberti et al. 2013) en términos de linfedema, neuropatía sensorial o motora. En la presente Tesis doctoral, no se recogió de manera metódica la información referida a la toxicidad, salvo casos de linfedemas evidentes en la serie clínica. No obstante, en el estudio de Galimberti y colaboradores, que incluía una cohorte de 465 pacientes, con una media de seguimiento de 5 años, se registraron únicamente 10 recaídas locales en el brazo de las pacientes con linfadenectomía y 8 en el brazo de la biopsia del ganglio centinela sin linfadenectomía, así como 1 y 9 recaídas regionales, y 34 y 25 recaídas a distancia, respectivamente. Además, la SLE a los 5 años fue del 87.8 entre las pacientes con biopsia del ganglio centinela y del 84.4% en las pacientes que sufrieron linfadenectomía axilar, en comparación con el 100% observado en nuestra serie de 100 pacientes (Galimberti et al. 2013).

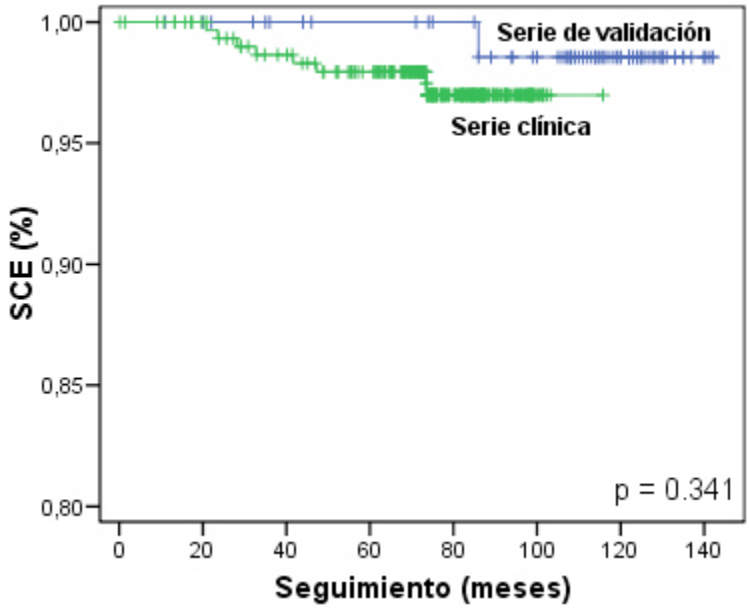

Figura 35. Kaplan-Meier que muestra la supervivencia causa-específica (SCE) entre las pacientes de la serie de validación y las pacientes de la serie clínica. La comparación entre los grupos se ha hecho con el test Log-rank.

No obstante, el resultado más interesante es que no observamos diferencias de supervivencia entre la serie de validación y la serie clínica, tal y como muestra la figura 35. Así, la SCE a los 5 años fue del 100% en la serie de validación y del 97.9%, no siendo significativas estas diferencias ($p = 0.341$). Resultados similares se observaron para el caso de la SLRL ($p = 0.299$), SLRG ($p = 0.605$), SLM ($p = 0.208$), SA ($p = 0.927$). En este sentido, la técnica de la biopsia selectiva del ganglio centinela con inyección subareolar única de tecnecio es una técnica segura y fiable para el estadiaje de las enfermas de cáncer de mama. Las principales ventajas, aparte de las propias ventajas técnicas que pueda ofrecer, vienen dadas en términos de reacciones adversas y complicaciones.

CONCLUSIONES

V. CONCLUSIONES

1. La inyección subareolar única del trazador ^{99m}Tc-nanocoloides en la biopsia selectiva del ganglio centinela en el cáncer de mama, a pesar de ser una técnica poco extendida, es un procedimiento útil para la localización del ganglio centinela en estas pacientes.

2. La técnica ha sido validada en una serie de 100 pacientes y su aplicabilidad clínica evaluada en otra serie de 348 enfermas de cáncer de mama. La supervivencia de las pacientes vino influenciada por los factores de pronóstico clásicos de la enfermedad (tamaño tumoral, tipo histológico, estado de los receptores hormonales), no influyendo en ningún modo la técnica empleada en la supervivencia de las pacientes.

3. Este tipo de inyección presenta múltiples ventajas frente a otros métodos, siendo la más destacable que no precisa de localizar el tumor primario. Además, parece ser útil en casos de tumores multicéntricos o con biopsia escisional previa, tal y como se ha observado en la serie clínica de pacientes.

4. La inyección subareolar única de ^{99m}Tc-nanocoloides en la biopsia selectiva del ganglio centinela en el cáncer de mama es una técnica segura y fiable, y, teniendo en cuenta las ventajas que ofrece y la falta de consenso existente en relación a la metodología a emplear, apta para su implementación en la práctica clínica habitual.

REFERENCIAS

VI. REFERENCIAS

Acea, N. (2003). "Controversias en torno a la biopsia del ganglio centinela en enfermas con cáncer de mama. ¿Qué dice la medicina basada en la evidencia?" Cir Esp **73**: 354-360.

Adachi, Y., T. Kamakura, et al. (1994). "Prognostic significance of the number of positive lymph nodes in gastric carcinoma." Br J Surg **81**(3): 414-416.

AJCC (2002). Cancer Staging Manual. New York, Springer.

Albain, K. S., W. E. Barlow, et al. (2010). "Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal women with node-positive, oestrogen-receptor-positive breast cancer on chemotherapy: a retrospective analysis of a randomised trial." Lancet Oncol **11**(1): 55-65.

Albertini, J. J., G. H. Lyman, et al. (1996). "Lymphatic mapping and sentinel node biopsy in the patient with breast cancer." JAMA **276**(22): 1818-1822.

Albo, D., J. D. Wayne, et al. (2001). "Anaphylactic reactions to isosulfan blue dye during sentinel lymph node biopsy for breast cancer." Am J Surg **182**(4): 393-398.

Alex, J. C. and D. N. Krag (1993). "Gamma-probe guided localization of lymph nodes." Surg Oncol **2**(3): 137-143.

Alex, J. C., D. L. Weaver, et al. (1993). "Gamma-probe-guided lymph node localization in malignant melanoma." Surg Oncol **2**(5): 303-308.

Arens, N., U. Bleyl, et al. (2005). "HER2/neu, p53, Ki67, and hormone receptors do not change during neoadjuvant chemotherapy in breast cancer." Virchows Arch **446**(5): 489-496.

Armas, F., M. J. Hernandez, et al. (2005). "[Utility and advantages of single tracer subareolar injection in sentinel lymph node biopsy in breast cancer]." Cir Esp **78**(4): 260-265.

Atkinson, E. N., B. W. Brown, et al. (1986). "Tumor volume, nodal status, and metastasis in breast cancer in women." J Natl Cancer Inst **76**(2): 171-178.

Aukland, K. and R. K. Reed (1993). "Interstitial-lymphatic mechanisms in the control of extracellular fluid volume." Physiol Rev **73**(1): 1-78.

Balic, M., A. Williams, et al. (2010). "Micrometastasis: detection methods and clinical importance." Cancer Biomark **9**(1-6): 397-419.

Barnwell, J. M., M. A. Arredondo, et al. (1998). "Sentinel node biopsy in breast cancer." Ann Surg Oncol **5**(2): 126-130.

Beitsch, P. D., E. Clifford, et al. (2001). "Improved lymphatic mapping technique for breast cancer." Breast J **7**(4): 219-223.

Bernet, L., A. Piñero, et al. (2010). "Actualización del consenso sobre la biopsia selectiva del ganglio centinela en el cáncer de mama." Rev Senología Patol Mam **23**(5): 201-208.

Bernet, L., A. Piñero, et al. (2014). "Consenso sobre la biopsia selectiva del ganglio centinela en el cáncer de mama. Revisión 2013 de la Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria." Rev Senol Patol Mamaria **27**: 43-53.

Berrino, F., G. Gatta, et al. (1998). "Introduction: the EUROCARE II Study." Eur J Cancer **34**(14 Spec No): 2139-2153.

Bleyer, A. and H. G. Welch (2012). "Effect of three decades of screening mammography on breast-cancer incidence." N Engl J Med **367**(21): 1998-2005.

Bond, M., T. Pavey, et al. (2013). "Systematic review of the psychological consequences of false-positive screening mammograms." Health Technol Assess **17**(13): 1-170.

Borgstein, P. J., R. Pijpers, et al. (1998). "Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: guidelines and pitfalls of lymphoscintigraphy and gamma probe detection." J Am Coll Surg **186**(3): 275-283.

Boyle, P. (2012). "Triple-negative breast cancer: epidemiological considerations and recommendations." Ann Oncol **23 Suppl 6**: vi7-12.

Bray, F., R. Sankila, et al. (2002). "Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 1995." Eur J Cancer **38**(1): 99-166.

Breast_Cancer_Network_of_Strength Available at: http://www.networkofstrength.org/espanol/informacion/diagnostico/tipos/cdi.php.

Buchholz, T. A. (2000). "Internal mammary lymph nodes: to treat or not to treat." Int J Radiat Oncol Biol Phys **46**(4): 801-803.

Burstein, H. J., J. R. Harris, et al. (2008). Malignant Tumors of the Breast. Cancer, Principles & Practice of Oncology (vol. 2)**:** 1606-1609.

Buseman, S., J. Mouchawar, et al. (2003). "Mammography screening matters for young women with breast carcinoma: evidence of downstaging among 42-49-year-old women with a history of previous mammography screening." Cancer **97**(2): 352-358.

Cabanas, R. M. (1977). "An approach for the treatment of penile carcinoma." Cancer **39**(2): 456-466.

Cabanes-Domenech, A., B. Pérez-Gómez, et al. (2009). La situación del cáncer en España, 1975-2006. I. d. S. C. III. Madrid.

Cady, B. (1994). "The need to reexamine axillary lymph node dissection in invasive breast cancer." Cancer **73**(3): 505-508.

Cady, B. (1997). "Case against axillary lymphadenectomy for most patients with infiltrating breast cancer." J Surg Oncol **66**(1): 7-10.

Cantin, J., H. Scarth, et al. (2001). "Clinical practice guidelines for the care and treatment of breast cancer: 13. Sentinel lymph node biopsy." CMAJ **165**(2): 166-173.

Carter, C. L., C. Allen, et al. (1989). "Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases." Cancer **63**(1): 181-187.

Clark, G. M. (1996). "Prognostic and predictive factors." Diseases of The Breast. Ed Lippman ME, Morrow M, Hellman S, Lippincot -Raven Publishers, Philadelphia.

Cochran, A. J., D. R. Wen, et al. (1992). "Management of the regional lymph nodes in patients with cutaneous malignant melanoma." World J Surg **16**(2): 214-221.

Cody, H. S., 3rd (2010). "Clinical significance and management of extra-axillary sentinel lymph nodes: worthwhile or irrelevant?" Surg Oncol Clin N Am **19**(3): 507-517.

Collaborative_Group_on_Hormonal_Factors_in_Breast_Cancer (1996). "Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53 297 women with breast cancer and 100 239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer." Lancet **347**(9017): 1713-1727.

Connor, A. E., R. N. Baumgartner, et al. (2013). "Differences between Hispanic and non-Hispanic white women with breast cancer for clinical characteristics and their correlates." Ann Epidemiol **23**(4): 227-232.

Consenso_de_Salamanca (2001). "Reunión Nacional Consenso de Salamanca sobre Ganglio Centinela y Cáncer de Mama." http://www.semn.es/prof/informescongresos/reunionconsenso.html.

Cox, C. E., S. Pendas, et al. (1998). "Guidelines for sentinel node biopsy and lymphatic mapping of patients with breast cancer." Ann Surg **227**(5): 645-651; discussion 651-643.

Curado, M. P. (2011). "Breast cancer in the world: incidence and mortality." Salud Publica Mex **53**(5): 372-384.

Chen, R. C., N. U. Lin, et al. (2008). "Internal mammary nodes in breast cancer: diagnosis and implications for patient management -- a systematic review." J Clin Oncol **26**(30): 4981-4989.

Chlebowski, R. T., S. L. Hendrix, et al. (2003). "Influence of estrogen plus progestin on breast cancer and mammography in healthy postmenopausal women: the Women's Health Initiative Randomized Trial." JAMA **289**(24): 3243-3253.

Davies, C., H. Pan, et al. (2013). "Long-term effects of continuing adjuvant tamoxifen to 10 years versus stopping at 5 years after diagnosis of oestrogen receptor-positive breast cancer: ATLAS, a randomised trial." Lancet **381**(9869): 805-816.

Doting, M. H., L. Jansen, et al. (2000). "Lymphatic mapping with intralesional tracer administration in breast carcinoma patients." Cancer **88**(11): 2546-2552.

Drukker, C. A., J. M. Bueno-de-Mesquita, et al. (2013). "A prospective evaluation of a breast cancer prognosis signature in the observational RASTER study." Int J Cancer **133**(4): 929-936.

Estapé Rodríguez, J., J. J. Grau de Castro, et al. (1995). Diagnóstico de extensión y estrategia terapéutica en diversos tumores sólidos. . Medicina Interna Madrid, Mosby-Doyma**:** 1169-1170.

Esteva, F. J. and G. N. Hortobagyi (2004). "Prognostic molecular markers in early breast cancer." Breast Cancer Res **6**(3): 109-118.

Estourgie, S. H., O. E. Nieweg, et al. (2004). "Lymphatic drainage patterns from the breast." Ann Surg **239**(2): 232-237.

Fancellu, A., P. Cottu, et al. (2012). "Sentinel node biopsy in early breast cancer: lessons learned from more than 1000 cases at a single institution." Tumori **98**(4): 413-420.

Foekens, J. A., D. Atkins, et al. (2006). "Multicenter validation of a gene expression-based prognostic signature in lymph node-negative primary breast cancer." J Clin Oncol **24**(11): 1665-1671.

Fox, S. B., G. Gasparini, et al. (2001). "Angiogenesis: pathological, prognostic, and growth-factor pathways and their link to trial design and anticancer drugs." Lancet Oncol **2**(5): 278-289.

Galimberti, V., B. F. Cole, et al. (2013). "Axillary dissection versus no axillary dissection in patients with sentinel-node micrometastases (IBCSG 23-01): a phase 3 randomised controlled trial." Lancet Oncol **14**(4): 297-305.

Gallegos-Hernández, J. F. and A. Melhado-Orellana (2002). "Cómo efectuar el mapeo linfático en cáncer de mama. Técnica, indicaciones y controversias." Cirugía y Cirujanos **70**: 86-92.

Giuliano, A. E., P. S. Dale, et al. (1995). "Improved axillary staging of breast cancer with sentinel lymphadenectomy." Ann Surg **222**(3): 394-399; discussion 399-401.

Giuliano, A. E., K. K. Hunt, et al. (2011). "Axillary dissection vs no axillary dissection in women with invasive breast cancer and sentinel node metastasis: a randomized clinical trial." JAMA **305**(6): 569-575.

Giuliano, A. E., R. C. Jones, et al. (1997). "Sentinel lymphadenectomy in breast cancer." J Clin Oncol **15**(6): 2345-2350.

Giuliano, A. E., D. M. Kirgan, et al. (1994). "Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer." Ann Surg **220**(3): 391-398; discussion 398-401.

Glas, A. M., A. Floore, et al. (2006). "Converting a breast cancer microarray signature into a high-throughput diagnostic test." BMC Genomics **7**: 278.

Goldhirsch, A., R. D. Gelber, et al. (2013a). "2 years versus 1 year of adjuvant trastuzumab for HER2-positive breast cancer (HERA): an open-label, randomised controlled trial." Lancet **382**(9897): 1021-1028.

Goldhirsch, A., E. P. Winer, et al. (2013b). "Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013." Ann Oncol **24**(9): 2206-2223.

Goldhirsch, A., W. C. Wood, et al. (2011). "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 **22**(8): 1736-1747.

Gong, Y., D. J. Booser, et al. (2005). "Comparison of HER-2 status determined by fluorescence in situ hybridization in primary and metastatic breast carcinoma." Cancer **103**(9): 1763-1769.

Goss, P. E. and S. Sierra (1998). "Current perspectives on radiation-induced breast cancer." J Clin Oncol **16**(1): 338-347.

Gøtzsche, P. C. and M. Nielsen (2011). "Screening for breast cancer with mammography." Cochrane Database of Systematic Reviews **1**.

Hackshaw, A. (2003). "EUSOMA review of mammography screening." Ann Oncol **14**(8): 1193-1195.

Harris, J. R., M. E. Lippman, et al. (2004). "Diseases of the breast." Third ed, vol 2, cap 34. .

Hasan, T. N., B. Leena Grace, et al. (2013). "Association of BRCA1 promoter methylation with rs11655505 (c.2265C>T) variants and decreased gene expression in sporadic breast cancer." Clin Transl Oncol **15**(7): 555-562.

Haviland, J. S., J. R. Owen, et al. (2013). "The UK Standardisation of Breast Radiotherapy (START) trials of radiotherapy hypofractionation for treatment of early breast cancer: 10-year follow-up results of two randomised controlled trials." Lancet Oncol **14**(11): 1086-1094.

Hill, A. D., K. N. Tran, et al. (1999). "Lessons learned from 500 cases of lymphatic mapping for breast cancer." Ann Surg **229**(4): 528-535.

IARC (2003). "WHO Classification of Tumours Pathology of the Breast and Female Genital Organs." International Agency for Research on Cancer.

Imoto, S., H. Fukukita, et al. (2000). "Pilot study on sentinel node biopsy in breast cancer." J Surg Oncol **73**(3): 130-133.

Ivens, D., A. L. Hoe, et al. (1992). "Assessment of morbidity from complete axillary dissection." Br J Cancer **66**(1): 136-138.

Jimenez-Medina, C., A. López-Bonilla, et al. (2003). "Efectividad y controversias en el screening del cáncer de mama." Canarias Médica **16**: 58-63.

Jimenez, I. R., M. Roca, et al. (2008). "Particle sizes of colloids to be used in sentinel lymph node radiolocalization." Nucl Med Commun **29**(2): 166-172.

Kakuda, J. T., M. Stuntz, et al. (1999). "Objective assessment of axillary morbidity in breast cancer treatment." Am Surg **65**(10): 995-998.

Kallergi, M., M. A. Gavrielides, et al. (1998). "Simulation model of mammographic calcifications based on the American College of Radiology Breast Imaging Reporting and Data System, or BIRADS." Acad Radiol **5**(10): 670-679.

Kelly, A. M., B. Dwamena, et al. (2009). "Breast cancer sentinel node identification and classification after neoadjuvant chemotherapy-systematic review and meta analysis." Acad Radiol **16**(5): 551-563.

Kern, K. A. (1999). "Sentinel lymph node mapping in breast cancer using subareolar injection of blue dye." J Am Coll Surg **189**(6): 539-545.

Kern, K. A. and R. J. Rosenberg (2000). "Preoperative lymphoscintigraphy during lymphatic mapping for breast cancer: improved sentinel node imaging using subareolar injection of technetium 99m sulfur colloid." J Am Coll Surg **191**(5): 479-489.

Klimberg, V. S., I. T. Rubio, et al. (1999). "Subareolar versus peritumoral injection for location of the sentinel lymph node." Ann Surg **229**(6): 860-864; discussion 864-865.

Krag, D., D. Weaver, et al. (1998). "The sentinel node in breast cancer--a multicenter validation study." N Engl J Med **339**(14): 941-946.

Krag, D. N., S. J. Anderson, et al. (2007). "Technical outcomes of sentinel-lymph-node resection and conventional axillary-lymph-node dissection in patients with clinically node-negative breast cancer: results from the NSABP B-32 randomised phase III trial." Lancet Oncol **8**(10): 881-888.

Krag, D. N., D. L. Weaver, et al. (1993). "Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe." Surg Oncol **2**(6): 335-339; discussion 340.

Law, M., K. C. Cheng, et al. (2003). "Patient effective dose from sentinel lymph node lymphoscintigraphy in breast cancer: a study using a female humanoid phantom and thermoluminescent dosemeters." Br J Radiol **76**(911): 818-823.

Le Voyer, T. E., E. R. Sigurdson, et al. (2003). "Colon cancer survival is associated with increasing number of lymph nodes analyzed: a secondary survey of intergroup trial INT-0089." J Clin Oncol **21**(15): 2912-2919.

Lee, S., E. Y. Kim, et al. (2007). "Sentinel node identification rate, but not accuracy, is significantly decreased after pre-operative chemotherapy in axillary node-positive breast cancer patients." Breast Cancer Res Treat **102**(3): 283-288.

Li, X. R., M. Liu, et al. (2011). "Evaluation of ER, PgR, HER-2, Ki-67, cyclin D1, and nm23-H1 as predictors of pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast cancer." Med Oncol **28 Suppl 1**: S31-38.

Linehan, D. C., A. D. Hill, et al. (1999). "Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: unfiltered radioisotope is superior to filtered." J Am Coll Surg **188**(4): 377-381.

Mansel, R. E., L. Fallowfield, et al. (2006). "Randomized multicenter trial of sentinel node biopsy versus standard axillary treatment in operable breast cancer: the ALMANAC Trial." J Natl Cancer Inst **98**(9): 599-609.

Maza, S., A. Thomas, et al. (2004). "Subareolar injection of technetium-99m nanocolloid yields reliable data on the axillary lymph node tumour status in breast cancer patients with previous manipulations on the primary tumour: a prospective study of 117 patients." Eur J Nucl Med Mol Imaging **31**(5): 671-675.

Meijer, S., G. J. Collet, et al. (1996). "[Less axillary dissection necessary due to sentinel node biopsy in patients with breast carcinoma]." Ned Tijdschr Geneeskd **140**(45): 2239-2243.

Meijer, S., H. Torrenga, et al. (2002). "[Negative sentinel node in breast cancer patients a good indicator for continued absence of axillary metastases]." Ned Tijdschr Geneeskd **146**(20): 942-946.

Meretoja, T. J., H. Joensuu, et al. (2010). "Safety of sentinel node biopsy in breast cancer patients who receive a second radioisotope injection after visualization failure in lymphoscintigraphy." J Surg Oncol **102**(6): 649-655.

Mignotte, H., I. Treilleux, et al. (2000). "[Interest of periareolar injection for colorimetric detection of sentinel node in breast cancer]." Bull Cancer **87**(7-8): 600-603.

Mohammed, R. A., I. O. Ellis, et al. (2009). "Vascular invasion in breast cancer; an overview of recent prognostic developments and molecular pathophysiological mechanisms." Histopathology **55**(1): 1-9.

Moncayo, V. M., J. N. Aarsvold, et al. (2013). "Status of sentinel lymph node for breast cancer." Semin Nucl Med **43**(4): 281-293.

Morton, D. L., D. R. Wen, et al. (1992). "Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma." Arch Surg **127**(4): 392-399.

Moser, K., J. Patnick, et al. (2009). "Inequalities in reported use of breast and cervical screening in Great Britain: analysis of cross sectional survey data." BMJ **338**: b2025.

Mullan, M. H., S. J. Deacock, et al. (2001). "Anaphylaxis to patent blue dye during sentinel lymph node biopsy for breast cancer." Eur J Surg Oncol **27**(2): 218-219.

Nieweg, O. E., B. A. Kapteijn, et al. (1996). "[Identification of the sentinel node in patients with breast carcinoma]." Ned Tijdschr Geneeskd **140**(45): 2235-2239.

O'Hea, B. J., A. D. Hill, et al. (1998). "Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: initial experience at Memorial Sloan-Kettering Cancer Center." J Am Coll Surg **186**(4): 423-427.

Owens, M. A., B. C. Horten, et al. (2004). "HER2 amplification ratios by fluorescence in situ hybridization and correlation with immunohistochemistry in a cohort of 6556 breast cancer tissues." Clin Breast Cancer **5**(1): 63-69.

Paik, S., G. Tang, et al. (2006). "Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer." J Clin Oncol **24**(23): 3726-3734.

Park, S., B. W. Park, et al. (2013). "Lack of Either Estrogen or Progesterone Receptor Expression Is Associated with Poor Survival Outcome among Luminal A Breast Cancer Subtype." Ann Surg Oncol **20**(5): 1505-1513.

Perou, C. M., T. Sorlie, et al. (2000). "Molecular portraits of human breast tumours." Nature **406**(6797): 747-752.

Poggi, M. M., D. N. Danforth, et al. (2003). "Eighteen-year results in the treatment of early breast carcinoma with mastectomy versus breast conservation therapy: the National Cancer Institute Randomized Trial." Cancer **98**(4): 697-702.

Prat, A., M. C. Cheang, et al. (2013). "Prognostic significance of progesterone receptor-positive tumor cells within immunohistochemically defined luminal A breast cancer." J Clin Oncol **31**(2): 203-209.

Prati, R., S. K. Apple, et al. (2005). "Histopathologic characteristics predicting HER-2/neu amplification in breast cancer." Breast J **11**(6): 433-439.

Prentice, R. L., B. Caan, et al. (2006). "Low-fat dietary pattern and risk of invasive breast cancer: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial." JAMA **295**(6): 629-642.

Railo, M., S. Nordling, et al. (1993). "Prognostic value of Ki-67 immunolabelling in primary operable breast cancer." Br J Cancer **68**(3): 579-583.

Rakha, E. A., M. E. El-Sayed, et al. (2007). "Prognostic markers in triple-negative breast cancer." Cancer **109**(1): 25-32.

Ronckers, C. M., C. A. Erdmann, et al. (2005). "Radiation and breast cancer: a review of current evidence." Breast Cancer Res **7**(1): 21-32.

Ros, J. S., J. A. Fltcher, et al. (2003). "The HER2/NEU/neu gene and protein in breast cancer." Biomarker and target therapy **8**: 307-325.

Rosen, P. P. and S. Groshen (1990). "Factors influencing survival and prognosis in early breast carcinoma (T1N0M0-T1N1M0). Assessment of 644 patients with median follow-up of 18 years." Surg Clin North Am **70**(4): 937-962.

Rosen, P. P., M. L. Lesser, et al. (1983). "Discontinuous or "skip" metastases in breast carcinoma. Analysis of 1228 axillary dissections." Ann Surg **197**(3): 276-283.

Rosen, P. P., P. E. Saigo, et al. (1981). "Predictors of recurrence in stage I (T1N0M0) breast carcinoma." Ann Surg **193**(1): 15-25.

Roumen, R. M., J. G. Valkenburg, et al. (1997). "Lymphoscintigraphy and feasibility of sentinel node biopsy in 83 patients with primary breast cancer." Eur J Surg Oncol **23**(6): 495-502.

Rutgers, E. J. and O. E. Nieweg (2000). "How to do sentinel node biopsy in breast cancer." Ann Chir Gynaecol **89**(4): 331-335.

Salhab, M., N. Patani, et al. (2011). "Sentinel lymph node micrometastasis in human breast cancer: an update." Surg Oncol **20**(4): e195-206.

Sánchez-Villegas, A. and M. A. Martínez-González (1999). Estilos de vida y Salud Pública. Epidemiología y Prevención del Cáncer de Mama, New-Book Editions. **4:** 49-50.

Sant, M., C. Allemani, et al. (2009). "EUROCARE-4. Survival of cancer patients diagnosed in 1995-1999. Results and commentary." Eur J Cancer **45**(6): 931-991.

Saslow, D., C. Boetes, et al. (2007). "American Cancer Society guidelines for breast screening with MRI as an adjunct to mammography." CA Cancer J Clin **57**(2): 75-89.

Schnitt, S. J. (2006). "Estrogen receptor testing of breast cancer in current clinical practice: what's the question?" J Clin Oncol **24**(12): 1797-1799.

Schwartz, G. F., A. E. Guiliano, et al. (2002). "Proceeding of the consensus conference of the role of sentinel lymph node biopsy in carcinoma or the breast April 19-22, 2001, Philadelphia, PA, USA." Breast J **8**(3): 124-138.

SESPM (2010). "Actualización del consenso sobre la biopsia selectiva del ganglio centinela en el cáncer de mama." Revista de Senología y Patología Mamaria de la Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria **23**(5): 201-208.

Singletary, K. W. and S. M. Gapstur (2001). "Alcohol and breast cancer: review of epidemiologic and experimental evidence and potential mechanisms." JAMA **286**(17): 2143-2151.

Singletary, S. E., C. Allred, et al. (2002). "Revision of the American Joint Committee on Cancer staging system for breast cancer." J Clin Oncol **20**(17): 3628-3636.

Singletary, S. E. and J. L. Connolly (2006). "Breast cancer staging: working with the sixth edition of the AJCC Cancer Staging Manual." CA Cancer J Clin **56**(1): 37-47; quiz 50-31.

Smith, L. F., M. J. Cross, et al. (2000). "Subareolar injection is a better technique for sentinel lymph node biopsy." Am J Surg **180**(6): 434-437; discussion 437-438.

Smith, R. A., V. Cokkinides, et al. (2006). "American Cancer Society guidelines for the early detection of cancer, 2006." CA Cancer J Clin **56**(1): 11-25; quiz 49-50.

Sorlie, T., R. Tibshirani, et al. (2003). "Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets." Proc Natl Acad Sci U S A **100**(14): 8418-8423.

Sotiriou, C., P. Wirapati, et al. (2006). "Gene expression profiling in breast cancer: understanding the molecular basis of histologic grade to improve prognosis." J Natl Cancer Inst **98**(4): 262-272.

Steadman, L. and D. R. Rutter (2004). "Belief importance and the theory of planned behaviour: comparing modal and ranked modal beliefs in predicting attendance at breast screening." Br J Health Psychol **9**(Pt 4): 447-463.

Tafra, L. (2001). "The learning curve and sentinel node biopsy." American Journal of Surgery **182**: 347-350.

Turner-Warwick, R. T. (1959). "The lymphatics of the breast." Br J Surg **46**: 574-582.

Tuttle, T. M., M. Colbert, et al. (2002). "Subareolar injection of 99mTc facilitates sentinel lymph node identification." Ann Surg Oncol **9**(1): 77-81.

UICC (2010). Classification of Malignant Tumours, Wiley-Blackwell.

Uren, R. F., R. B. Howman-Giles, et al. (1995). "Mammary lymphoscintigraphy in breast cancer." J Nucl Med **36**(10): 1775-1780.

Valdes Olmos, R. A., C. A. Hoefnagel, et al. (1999). "Lymphoscintigraphy in oncology: a rediscovered challenge." Eur J Nucl Med **26**(4 Suppl): S2-S10.

Valenciano, A., L. A. Henriquez-Hernandez, et al. (2012). "Role of IGF-1 receptor in radiation response." Transl Oncol **5**(1): 1-9.

van Diest, P. J., J. P. Baak, et al. (1992). "Reproducibility of mitosis counting in 2,469 breast cancer specimens: results from the Multicenter Morphometric Mammary Carcinoma Project." Hum Pathol **23**(6): 603-607.

Veronesi, U., A. Luini, et al. (1990a). "Extent of metastatic axillary involvement in 1446 cases of breast cancer." Eur J Surg Oncol **16**(2): 127-133.

Veronesi, U., G. Paganelli, et al. (1997). "Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes." Lancet **349**(9069): 1864-1867.

Veronesi, U., G. Paganelli, et al. (1999). "Sentinel lymph node biopsy and axillary dissection in breast cancer: results in a large series." J Natl Cancer Inst **91**(4): 368-373.

Veronesi, U., G. Paganelli, et al. (2003). "A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer." N Engl J Med **349**(6): 546-553.

Veronesi, U., R. Saccozzi, et al. (1981). "Comparing radical mastectomy with quadrantectomy, axillary dissection, and radiotherapy in patients with small cancers of the breast." N Engl J Med **305**(1): 6-11.

Veronesi, U., B. Salvadori, et al. (1990b). "Conservative treatment of early breast cancer. Long-term results of 1232 cases treated with quadrantectomy, axillary dissection, and radiotherapy." Ann Surg **211**(3): 250-259.

Veronesi, U., R. Zucali, et al. (1986). "Local control and survival in early breast cancer: the Milan trial." Int J Radiat Oncol Biol Phys **12**(5): 717-720.

Waddington, W. A., M. R. Keshtgar, et al. (2000). "Radiation safety of the sentinel lymph node technique in breast cancer." Eur J Nucl Med **27**(4): 377-391.

Wald, N. J., J. Chamberlain, et al. (1994). "European Society of Mastology Consensus Conference on breast cancer screening: report of the evaluation committee." Br J Radiol **67**(802): 925-933.

Wallgren, A., C. Silfversward, et al. (1976). "Prognostic factors in mammary carcinoma." Acta Radiol Ther Phys Biol **15**(1): 1-16.

Whelan, T. J., J. P. Pignol, et al. (2010). "Long-term results of hypofractionated radiation therapy for breast cancer." N Engl J Med **362**(6): 513-520.

Whelehan, P., A. Evans, et al. (2013). "The effect of mammography pain on repeat participation in breast cancer screening: A systematic review." Breast.

Winchester, D. J., S. F. Sener, et al. (1999). "Sentinel lymphadenectomy for breast cancer: experience with 180 consecutive patients: efficacy of filtered technetium 99m sulphur colloid with overnight migration time." J Am Coll Surg **188**(6): 597-603.

Xiao, Z. F., Z. Y. Yang, et al. (2005). "Influence of number of metastatic lymph nodes on survival of curative resected thoracic esophageal cancer patients and value of radiotherapy: report of 549 cases." Int J Radiat Oncol Biol Phys **62**(1): 82-90.

Zarebczan Dull, B. and H. B. Neuman (2013). "Management of the axilla." Surg Clin North Am **93**(2): 429-444.

Zavagno, G., F. Meggiolaro, et al. (2002). "Subareolar injection for sentinel lymph node location in breast cancer." Eur J Surg Oncol **28**(7): 701-704.

Zetterlund, L., S. Stemme, et al. (2014). "Incidence of and risk factors for sentinel lymph node metastasis in patients with a postoperative diagnosis of ductal carcinoma in situ." Br J Surg **101**(5): 488-494.

Zurrida, S., A. Morabito, et al. (1999). "Importance of the level of axillary involvement in relation to traditional variables in the prognosis of breast cancer." Int J Oncol **15**(3): 475-480.