Check for updates

ARTÍCULO ORIGINAL

# Los subtipos moleculares en cáncer de mama avanzado responden diferente a la quimioterapia neoadyuvante: evaluación de la respuesta patológica completa y pronóstico

*Nicolás Ramírez-Torres*[1], *Rodolfo Rivas-Ruiz*[2] *y Juan José García-García*[3]

*[1]Servicio de Ginecología Oncológica, UMAE del Hospital de Ginecología y Obstetricia N.º 3, Centro Médico Nacional La Raza, IMSS; [2]Centro de Adiestramiento en Investigación Clínica, Coordinación de Investigación en Salud, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS; [3]Departamento de Salud Pública, Universidad Nacional Autonóma de México, Ciudad de México.*

## Resumen

**Objetivo:** *Examinar la respuesta patológica completa (RPc) en los subtipos moleculares en pacientes con cáncer de mama localmente avanzado (CMLA) tras recibir quimioterapia neoadyuvante (QN) con epirubicina y docetaxel (E-D) secuencial y examinar su relevancia pronóstica.* **Pacientes y métodos:** *Estudio longitudinal retrospectivo de 126 pacientes con cáncer de mama estadio III. Los cinco subtipos moleculares fueron identificados por biomarcadores de inmunohistoquímica (IHQ). Posteriormente a la QN se realizó cirugía y radioterapia.* **Resultados***: Existen diferencias en las respuestas a la QN. Se observó que la tasa de RPc fue superior en las pacientes con tumores que sobreexpresan el HER2: HER2+ (41.7%) y luminal B/HER2+ (LB/HER2: 38.5%). Los subtipos luminal A (LA) y triple negativo (TN) tuvieron una RPc semejante (29%). La RPc no parece ser un marcador de la supervivencia global (SG) en los tumores LB/HER2- y LB/HER2+. Los subtipos LA y TN tuvieron una mejor tasa de SG a cinco años (100% ambos) y no se observó una ventaja significativa entre estos tumores (p = 0.148). Las pacientes con tumor residual tuvieron el peor pronóstico en términos de SG, sobre todo los tumores LB/HER2- y LB/HER2+ (50% ambos) y HER2 (25%).* **Conclusiones:** *El estudio confirma que la RPc fue el factor pronóstico favorable en la SG en tres subtipos moleculares. Existen diferencias en la RPc entre el grupo RE positivo frente al grupo RE negativo, lo que sugiere que los mecanismos moleculares de susceptibilidad a la QN varían entre estos dos grupos.*

**Palabras clave:** *Quimioterapia neoadyuvante. Inmunohistoquímica. Subtipo molecular. Cáncer de mama avanzado. Docetaxel. Epirubicina.*

## *Molecular subtypes in advanced breast cancer respond differently to neoadjuvant chemotherapy: evaluation of the complete pathological response and prognosis*

## Abstract

**Objetive:** *To examine the pathological complete response (pCR) in the molecular subtypes in patients with locally advanced breast cancer after receiving neoadjuvant chemotherapy (NC) with epirubicin and sequential docetaxel (E-D) and examining their prognostic relevance.* **Patients and methods:** *Retrospective longitudinal study of 126 patients with stage III breast cancer. The five molecular subtypes were identified by immunohistochemistry biomarkers. After NC, surgery was performed, and radiotherapy was administered.* **Results:** *There are differences in response to NC, pCR rate was superior in the patients*

**Correspondencia:**
N. Ramírez-Torres
E-mail: nicolasestudio14@yahoo.com.mx

Fecha de recepción: 09-12-2017
Fecha de aceptación: 30-01-2018
DOI: 10.24875/j.gamo.M18000103



1665-9201/© 2018 Sociedad Mexicana de Oncología. Publicado por Permanyer México SA de CV. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

*in tumors with HER2 overexpression: HER2+ (41.7%) and luminal B/HER2 (LB/HER2: 38.5%). Luminal A (LA) and triple negative (TN) subtypes had a similar pCR (29%). The pCR does not appear to be a marker of overall survival (OS) in LB/HER2- and LB/HER2+ tumors. The LA and TN population had a better 5-year rate in OS (100% both); it was not observed a significant advantage among these tumors (p = 0.148). The patients with residual tumor had the worst prognosis in terms of OS, especially the LB/HER2- y B/HER2+ (50% both) and HER2 (25%) tumors.* **Conclusions:** *The study confirms that pCR was the favorable prognostic factor in OS in three molecular subtypes. There are differences in the pCR between the ER-positive group versus the ER-negative group, suggesting that the molecular mechanisms of susceptibility to NC vary between these two groups.*

***Key words:*** *Neoadjuvant chemotherapy. Immunohistochemistry. Molecular subtype. Locally advanced breast cancer. Docetaxel. Epirubicin.*

## Introducción

La QN es la opción primaria para tratar el cáncer de mama avanzado (etapa IIB/III). Hoy en día, el uso simultáneo o secuencial de antracilinas más taxanos son aceptados por ser más eficaces[1-5]. La tasa de respuesta clínica completa y parcial es mayor al 70% y la RPc es menor (20 al 38%) según el esquema terapéutico de antraciclinas y taxanos[1-5]; la RPc se asocia con buenos resultados a largo plazo en la supervivencia[2,3,6-8].

El examen histopatológico de la respuesta tumoral posquimioterapia es necesario para evaluar los cambios en la mama y en los ganglios linfáticos (GL)[9,10] y los diferentes sistemas de clasificación pueden evaluar la respuesta al tratamiento[7,8].

Los factores pronósticos y predictores de las pacientes con cáncer de mama son ampliamente utilizados en el pronóstico y evaluación del tratamiento apropiado[9,10]. Los carcinomas de mama expresan distintos genes, por lo que pueden ser clasificados mediante pruebas genómicas, que nos permiten definir una mejor clasificación, un pronóstico más preciso y una terapia más adecuada con base individual[10-13].

La clasificación molecular es posible realizarla del material embebido de parafina con una metodología más accesible como es la tinción de IHQ con un panel de marcadores biológicos tradicionales como el receptor de estrógeno (RE), el receptor de progesterona (RPg), el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) y el Ki-67, que permiten definir y discriminar los subtipos moleculares[7,10-17]. El estudio de IHQ es suficiente y reproducible como un sustituto del estudio genómico.

La expresión del receptor hormonal (RH) y del HER2 puede estar presente, definido como positivo (+) o ausente, definido como negativo (-). La combinación de estos biomarcadores constituye una mezcla de tumores biológicamente heterogéneos (RH+/HER2-, RH+/HER2+, RH-/HER2+ y RH-/HER2-) con diferencias en el tratamiento y en el pronóstico[7,10-19].

El subtipo luminal B/HER negativo representa una entidad intermedia en los tumores luminales[7,16-19]. La subclasificación de los carcinomas luminales puede ser posible usando el índice de proliferación de Ki-67[16-19] y la cuenta mitótica[19,20].

Este reporte identifica la incidencia de RPc, el valor predictivo y pronóstico de cada subtipo molecular en las pacientes con CMLA que fueron tratadas con QN a base de E-D secuencial.

## Pacientes y métodos

### *Selección de las pacientes*

Esta investigación retrospectiva longitudinal se llevó a cabo de enero de 2009 a diciembre de 2015 en la Unidad Médica de Alta Especialidad del Hospital de Ginecología y Obstetricia N.º 3, Centro Médico Nacional La Raza, Instituto Mexicano del Seguro Social.

Se incluyó a 126 pacientes menores de 75 años, con diagnóstico de tumor clínico (cT) en etapa avanzada (cT3-T4a-c y cT2, N1-2) y carcinoma inflamatorio (cT4d) sin evidencia de metástasis a distancia.

Las pacientes elegibles complementaron su evaluación con métodos de imagen del tumor primario (mastografía y/o ultrasonido) y de sitios potencialmente metastásicos (radiografía de tórax, gammagrama óseo y ultrasonido hepático). El diagnóstico histológico de carcinoma infiltrante fue confirmado del tejido obtenido mediante biopsia percutánea con aguja de corte grueso o por biopsia incisional abierta.

El estudio de IHQ de los biomarcadores RE, RPg y HER2 fue posible en todos los casos; en la mayor parte de las ocasiones se realizaron previamente a la QN. Los RE y RPg se consideraron positivos si las células tumorales se teñían en al menos un 1%. El HER2 se consideró positivo con puntuación de 3+ y en caso de expresión ambigua (puntuación 2+) se utilizó el método de hibridación *in situ* cromogénica con resultado positivo.

Se realizó un panel de IHQ para identificar los marcadores biológicos obtenidos del tumor primario en los cortes de tejido embebido de parafina. Se utilizaron anticuerpos primarios monoclonales para RE (clona 1D5) y RPg (clona RBT22). Los anticuerpos policlonales se usaron para HER2 (clona HER-2), todos los marcadores fueron marca DAKO. Los estudios de IHQ de las pacientes con CMLA revelan la expresión de determinadas proteínas en las células tumorales, por lo que se puede considerar un reflejo de la biología molecular tumoral y es una alternativa a los estudios genómicos costosos.

## *Tratamiento oncológico*

Las pacientes recibieron QN con E-D secuencial con dosis estándar. Tras complementar un mínimo de seis ciclos y un máximo de ocho ciclos de quimioterapia se realizó mastectomía total con disección axilar. Los detalles del esquema de quimioterapia y cirugía se describen en estudio previo[5]. La radioterapia se recomendó a todas las pacientes con diagnóstico inicial del tumor y/o ganglio clínico (cN): cT3, cT4, cN2 y cN3.

Las pacientes con RE+ y/o RPg+ por IHQ recibieron tratamiento hormonal durante cinco años. Las pacientes con tumores HER2+ no recibieron trastuzumab simultáneo durante el periodo de aplicación de la QN. No recibieron quimioterapia adyuvante sin importar la respuesta patológica posquimioterapia, excepto los casos con recidiva poscirugía.

## *Definición de la respuesta patológica*

Los criterios de estadificación clínica y del estadio "y" postratamiento fueron obtenidos del manual del *American Joint Committee on Cancer*, 6ª edición[21]. La RPc posquimioterapia se define como la ausencia de células malignas invasoras tanto en la mama como en los GL axilares. El carcinoma *in situ* (ypTis) residual posquimioterapia se permitió solamente en la mama. Pacientes con focos tumorales en los GL no fueron incluidos como respuesta completa. Nuestros datos se basan en la definición de RPc (ypT0/is ypN0) usada por varios grupos oncológicos: *MD Anderson Cancer Center*, *Austrian Breast and Colorectal Study* y *Neo-Breast International*[7].

La histología y el grado fueron revaluados. Las característcas morfológicas de los tumores fueron evaluados por patólogos expertos del hospital: tipo y grado histológico, invasión linfovascular (ILV), tumor patológico y ganglio patológico (pN). El estudio de IHQ fue realizado por patólogos de un mismo laboratorio externo para asegurar la reproducción de los resultados del RE, RPg y HER2.

## *Definición del subtipo molecular*

La clasificación molecular establecida en St. Gallen (2011) recomienda utilizar cinco categorías. La inclusión de la categoría o clase luminal B/HER2- fue definida como carcinoma con RE+ y RPg+, índice alto de Ki-67 y HER2-[17].

Debido a la falta de información en nuestro estudio de Ki-67 y de otros biomarcadores (e-cadherina, EFGR, CK5, CK6 y CK14) usamos los tres biomarcadores básicos por IHQ (RE, RPg y HER2) asociados al grado (que determina la proliferación celular) como lo propone el estudio de von Minckwitz[7]:

- Luminal A (LA): tumores con RE positivo y/o RPg positivo, HER2 negativo, grado 1 o 2.
- Luminal B/HER2 negativo (LB/HER2-): tumores con RE positivo y/o RPg positivo, HER2 negativo, grado 3.
- Luminal B/HER2 positivo (LB/HER2+): tumores con RE positivo y/o RPg positivo, HER2 positivo, todos los grados.

HER2 positivo (HER2+): tumores con RE negativo, RPg negativo, HER2 positivo, todos los grados.

Triple Negativo (TN): tumores con RE negativo, RPg negativo, HER2 negativo, todos los grados. El tumor TN también es conocido como fenotipo basal[22,23].

## Análisis estadístico

El objetivo principal fue evaluar la utilidad de la clasificación molecular definida por IHQ como un marcador predictivo de la incidencia de RPc (en la mama y en los GL) en una cohorte de pacientes con CMLA que fueron tratadas con QN a base de E-D secuencial.

En el segundo objetivo, evaluamos el impacto pronóstico en los cinco subtipos del CMLA en la supervivencia libre de enfermedad (SLE) y SG a cinco años en quienes obtuvieron una RPc o tumor residual posterior a la QN.

Las variables categóricas clínicas y patológicas basales en la población de estudio fueron evaluadas mediante la prueba de chi cuadrada. Los números pequeños en las variables categóricas (p. ej., subtipo, RPc) fueron analizados con la prueba exacta de Fisher. El tamaño del tumor inicial (cm) y tumor final (cm) posquimioterapia fueron evaluados como variables continuas mediante la prueba de Kruskal Wallis.

Para estimar la magnitud y precisión de la asociación de los subtipos moleculares con las características

clinicopatológicas se utilizó un modelo de regresión logística. Se emplearon los subtipos moleculares como variables de resultado y las exposiciones como variables explicativas. Los resultados fueron expresados en *odds ratio* (OR) con sus intervalos de confianza (IC) del 95%. En los modelos logísticos, para probar el sobreajuste se realizó la prueba de bondad de ajuste de Hosmer-Lemeshow, el cual no reveló evidencia significativa de falta de ajuste.

El método límite de producto de Kaplan-Meier[24] se usó para estimar la función de supervivencia (SLE y SG) y las pruebas de *log-rank* se llevaron a cabo para comparar las diferencias observadas en la RPc de cada subtipo molecular.

La SLE corresponde al tiempo medido a partir de la fecha de cirugía hasta la fecha de la primera recidiva (registrada por clínica y/o por método de imagen), segunda neoplasia maligna o fecha de muerte por cualquier causa. Los siguientes eventos fueron considerados en la SLE: recidiva local, regional y metástasis a distancia. El cáncer de mama contralateral se consideró como recidiva a distancia.

La SG corresponde al tiempo medido a partir de la fecha de inicio de quimioterapia hasta la fecha de muerte por cualquier causa o última visita. Desde su ingreso se tuvo seguimiento de todos los casos a lo largo de los años en los diferentes subtipos independientemente de la proporción de pacientes. Este informe tomó como referencia cinco años en porcentajes para facilitar la interpretación en las tasas de supervivencia.

El método de riesgos proporcionales de Cox[25] se llevó cabo para estimar la *hazard ratio* (HR) con sus IC del 95% de aquellos factores que potencialmente podrían modificar la supervivencia. Las diferencias en el resultado del tiempo hasta el evento fueron comparadas usando las pruebas de *log-rank*.

Se construyeron modelos multivariantes de Cox para evaluar el impacto pronóstico en los diferentes subtipos moleculares (LA, LB/HER2-, LB/HER+, HER2, TN) ajustado a las principales características clinicopatológicas: edad (< 50 años vs. > 50 años), estadio clínico (IIIA vs. IIIB-C), grado (G1-2 vs. G3) y pN (pN0-pN1 vs. pN2-pN3).

Todos los tests utilizados fueron bilaterales y los valores de $p < 0.05$ o los IC 95% que no contuvieran el valor 1 se consideraron estadísticamente significativos. La base de datos y los análisis estadísticos se realizaron usando el programa estadístico SPSS versión 15 (SPSS Inc., Chicago, IL).

**Tabla 1.** Características basales

| Característica | n (%) |
|---|---|
| Edad | |
| < 50 años | 65 (51.6) |
| > 50 años | 61 (48.4) |
| Tumor clínico (cT) | |
| cT2-3 | 67 (53.2) |
| cT4 | 59 (46.8) |
| Ganglio clínico (cN) | |
| cN1 | 56 (44.4) |
| cN2 | 70 (55.6) |
| Etapa clínica (cIII) | |
| cIIIA | 67 (53.2) |
| cIIIB | 59 (46.8) |
| Grado histológico | |
| Grado 2 | 78 (61.9) |
| Grado 3 | 48 (38.1) |
| RE por IHQ | |
| Positivo | 83 (65.9) |
| Negativo | 43 (34.1) |
| RPg por IHQ | |
| Positivo | 64 (50.8) |
| Negativo | 62 (49.2) |
| HER2 por IHQ | |
| Negativo | 101 (80.2) |
| Positivo | 25 (19.8) |

RE: receptor de estrógeno; RPg: receptor de progesterona; HER2: receptor 2 del factor epidérmico de crecimiento humano.

## Resultados

### *Características clínicas y patológicas de la población*

Se evaluaron 126 pacientes con CMLA (todas en estadio III). Para el grupo entero, la mediana de edad al momento del diagnóstico fue de 50 años (límites, 27 a 75 años). El mayor diámetro mediano de los tumores previo a la QN correspondió a los subtipos LB/HER- (8.5 cm) y LB/HER2+ (8 cm) (Fig. 1A). El efecto de la QN sobre el tumor presentó una mejor respuesta en los subtipos LA y HER2, con un registro del diámetro mediano del tumor final de 1.5 cm y 0.2 cm, respectivamente (Fig. 1B).

La distribución de los datos clínicos y patológicos basales se resumen en la tabla 1. La mayoría de los casos tuvieron tumores estadio IIIA (53.2%), grado 2 (61.9%) y enfermedad ganglionar clínica categoría cN2 (55.6%), en todos los subtipos predominó el ganglio cN2 previo a la QN con alto porcentaje (41.2 a

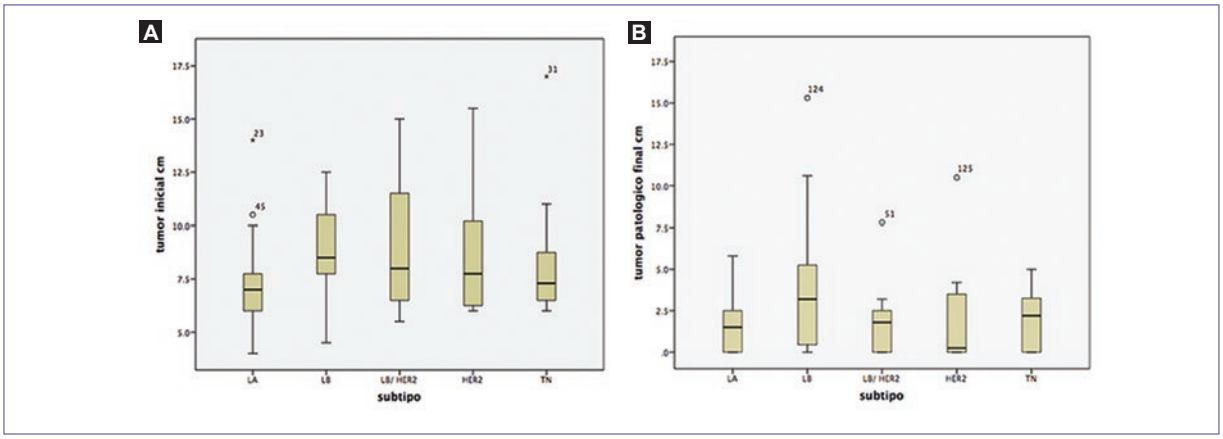



**Figura 1. A:** Los tumores de mayor tamaño mediano al momento del diagnóstico fueron los tumores LB (8.5 cm) y LB/HER2+ (8.3 cm) previamente a la QN. **B:** Tamaño final mediano de los tumores. Los tumores LA (1.5 cm) y HER2 (0.2 cm) mostraron mejor tendencia de regresión tumoral posterior al tratamiento.
LA: luminal A; LB: luminal B/HER2 negativo; LB/HER2: luminal B/HER2 positivo; HER2: receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano; TN: triple negativo.

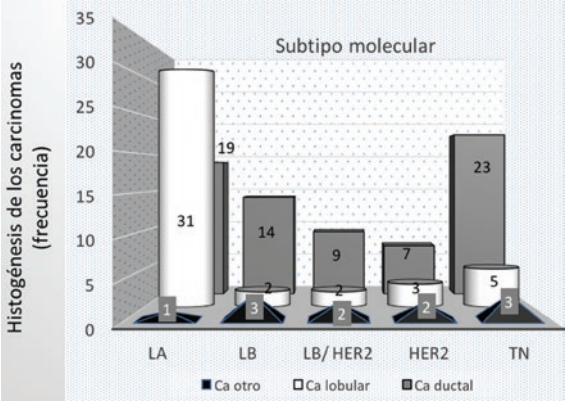



**Figura 2.** Distribución de la histogénesis de los carcinomas en los subtipos moleculares. El carcinoma lobular predominó en el subtipo LA (n = 31) y el carcinoma ductal en cuatro subtipos, particularmente en los TN (n = 23).
Ca: carcinoma; LA: luminal A; LB: luminal B/HER2 negativo; LB/HER2: luminal B/HER2 positivo; HER2: receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano; TN: triple negativo.

69.2%). La sobreexpresión del HER2 estuvo presente en 25 casos (19.8%) y 83 casos (65.9%) expresaron enfermedad RE+.

El carcinoma ductal (57.1%) fue la histología dominante, un subgrupo menor tenía carcinomas lobulares, estos fueron encontrados comúnmente en los LA (n = 31) y TN (n = 5). Los casos más frecuentes fueron los tumores LA (n = 51) y los TN (n = 31) (Fig. 2).

## Correlación de la RPc con los subtipos moleculares

Tras recibir E-D secuencial, evaluamos la respuesta a la QN y la distribución de la RPc en las pacientes con CMLA en los cinco subtipos moleculares. Se observaron diferencias en las tasas de la RPc en cada subtipo (p = 0.743) (Tabla 2).

Los subtipos con fenotipo HER2+, no obstante el RH, se asociaron con la tasa más alta de RPc: HER2+ con 41.7% (IC 95%: 13.2-70.1) y LB/HER2+ con 38.5% (IC 95%: 11.5-65.4). Los subtipos TN y LA tuvieron una tasa de RPc semejante (29%). La tasa más baja de RPc se presentó en los LB/HER2- en 21.1% (IC 95%: 2.3-39.8). Quienes presentaron mayor tasa de tumor residual posquimioterapia fueron las pacientes con tumores LB/HER2- (78.9%), LA (70.6%) y TN (71%) (Tabla 2a).

También comparamos subtipo por subtipo según la respuesta (RPc vs. no RPc) y no encontramos diferencias significativas en cada una de las comparaciones correspondientes. La mayor diferencia sin ser significativa (p = 0.218) se observó entre los subtipos LB/HER2- y HER2+ (Tabla 2b).

## Los OR de los subtipos moleculares

Los OR de los subtipos y su interacción con las características clínicas y patológicas de las pacientes con carcinomas en etapa avanzada se muestran en la tabla 3. El subtipo LA fue el grupo referente. Los

tumores LB/HER2- tuvieron un 30% de probabilidad (*odds*) de asociarse a pacientes de mayor edad (> 50 años) y aquellas con edad menor (< 50 años) tuvieron más probabilidad de asociarse a tumores TN y LB/HER2+ (en 40% y 20%, respectivamente).

Por su gran actividad proliferativa, cuatro subtipos (LB/HER2-, LB/HER2+, HER2+ y TN) tenían más probabilidad de tener una histogénesis ductal, que fue más evidente en los LB/HER2- y LB/HER2+ seguido de los TN (OR de 13.1, 8.5 y 8, respectivamente) (Tabla 3). Las pacientes con tumores LA tuvieron más probabilidad de tener una histogénesis lobular (v. Fig. 2).

La probabilidad de ser tumores cT4 la experimentaron particularmente los tumores de alto riesgo: HER2, LB/HER2- y TN (OR de 4.2, 3.5 y 2.2, respectivamente), mientras que los casos LA eran más propensos a ser de menor tamaño y grado 2. Las *odds* de enfermedad ganglionar cN2 fueron de 3.6 y 1.1 veces mayores que si fuese enfermedad ganglionar cN1 en las pacientes con tumores HER2 y LB/HER2-, respectivamente.

Los tumores LB/HER2- y HER2+ se caracterizaron por ser poco diferenciados (OR de 48 y 10.4, respectivamente) en comparación con los otros subtipos. La presencia de ILV extensa fue significativamente superior solo en los LB/HER2- (OR: 4.4, p = 0.009), que está en relación al tumor poco diferenciado. El análisis del RE, RPg y HER2 no se determinó, ya que estos se utilizaron para definir a los subtipos.

## Supervivencia de los subtipos de acuerdo con la RPc

El análisis de las curvas de Kaplan-Meier reveló que hubo diferencias significativas en la SLE a cinco años en todos los subtipos al comparar las pacientes con RPc con aquellas con tumor residual. Al comparar por subtipo, la significancia pronóstica en la SLE fue mejor en las pacientes con RPc con tumores LA (100%, p = 0.021) y TN (100%, p = 0.023) que en aquellas con tumores HER2 (80%, p = 0.021), LB/HER2+ (67%, p = 0.022) y LB/HER2- (25%, p = 0.034) (Figs. 3 A-E).

Tras evaluar las curvas de Kaplan-Meier en la SG a cinco años, el efecto de la RPc en la SG solo fue significativo en las pacientes con tumores HER2 (80%, p = 0.048). Aunque las pacientes con tumores LA y TN mostraron una tasa superior en la SG a cinco años (100%, ambos), las diferencias estadísticas fueron limítrofe para los LA (p = 0.052) y no significativa (p = 0.065) para los TN (Figs. 4 A-E).

Al comparar la RPc entre la población LA y TN en términos de SG, no se observó una ventaja significativa entre estos tumores (p = 0.148). En cambio, del grupo RPc quienes tenían tumores LB/HER2- y LB/HER2+ experimentaron la peor SG (50% ambos).

Las pacientes con tumor residual tuvieron tasas reducidas en la SG en todos los subtipos y el peor pronóstico ocurrió particularmente en las pacientes con tumores que sobreexpresan HER2: LB/HER2+ (50%) y HER2+ (25%) (v. Figs. 4 A-E).

## Influencia pronóstica del estado ganglionar patológico

La mediana del número de pN positivos posterior a la QN fue de 0 (límites, 0 a 17). Al estratificar el estado de los pN posquimioterapia, la ocurrencia de pN axilares negativos tras el efecto de la QN la experimentaron dos subtipos: LA (56.8%) y TN (51.6%). Los subtipos LB/HER2- y LB/HER2+, además del HER2+, tuvieron la mayor prevalencia de enfermedad ganglionar residual (57.9%, 53.8% y 58.3%, respectivamente) (Tabla 4a).

La influencia pronóstica de los pN en la SG es diferente en cada subtipo, las pacientes con pN negativos tuvieron un incremento en la SG a cinco años, excepto en los casos LB/HER2-, donde los grupos pN0 y pN > 4 tuvieron SG semejante (53% y 50%, respectivamente); la mayor diferencia en la SG con pN negativos ocurrió en los casos LA y TN (100% ambos) frente a los casos LB/HER2- (53.6%) y LB/HER2+ (66.7%) (Tabla 4b).

Las pacientes del estrato pN > 4 (ypN2-3) tuvieron el peor pronóstico en la SG en todos los subtipos. Sobre todo, los subtipos LB/HER2+, TN y HER2+ experimentaron una tasa reducida en la SG a cinco años (0%, 18% y 40%, respectivamente) en comparación a los casos LA y LB/HER2- (50% ambos) (v. Tabla 4b).

## Análisis multivariante de los subtipos moleculares

En la construcción de modelos multivariantes de Cox no incorporamos a las variables RE, RPg y HER2, ya que definen a los subtipos moleculares. El tamaño del tumor y ganglio no fueron incluidos para evitar la colinealidad con la etapa. Solo la etapa y los pN fueron predictores independientes de mal pronóstico en la SG.

El principal predictor independiente fue el pN residual (> 4), al mostrar el peor pronóstico en todos los subtipos. Los tumores HER2+ y TN tuvieron un incremento en el riesgo de muerte en 3.5 (p = 0.010) y 3.4 (p = 0.012) veces, el HR es tan alto como en los

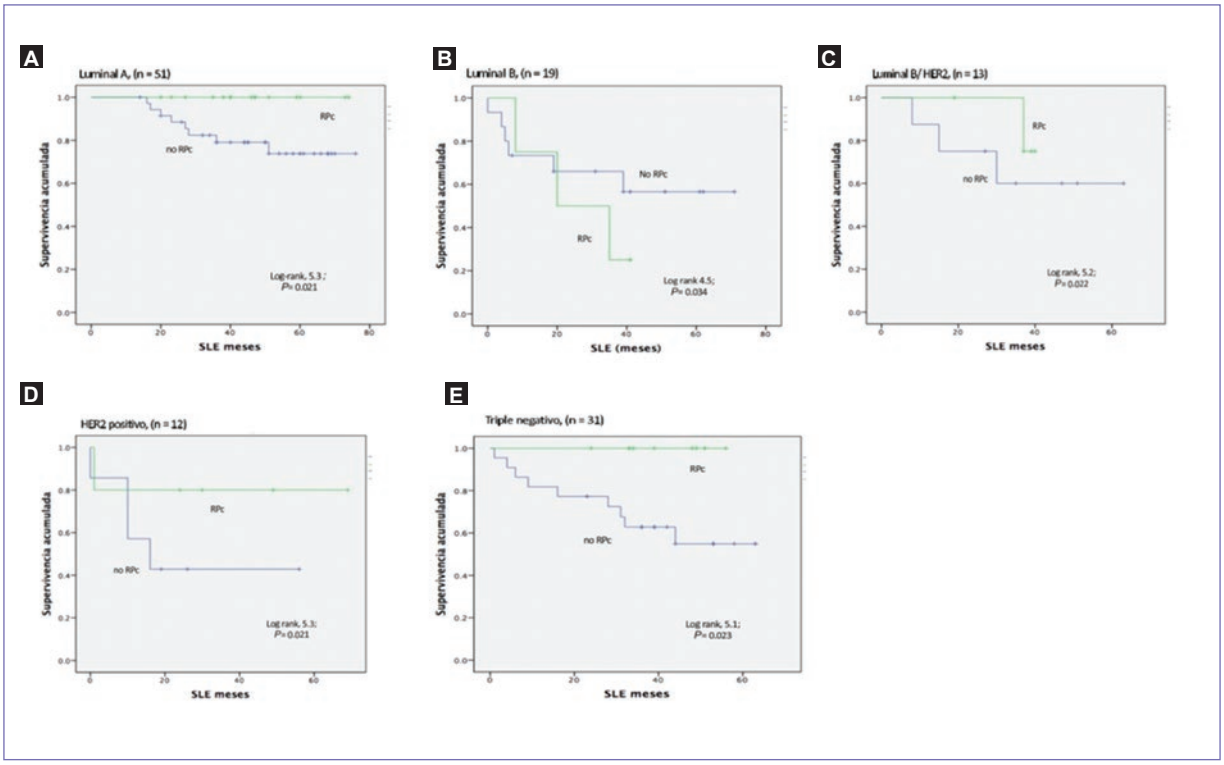



**Figura 3.** Diferencias en la SLE según la RPc asociado al subtipo molecular en pacientes con cáncer de mama avanzado: **(A)** luminal A, **(B)** luminal B, **(C)** luminal B/HER2, **(D)** HER2 positivo y **(E)** triple negativo.

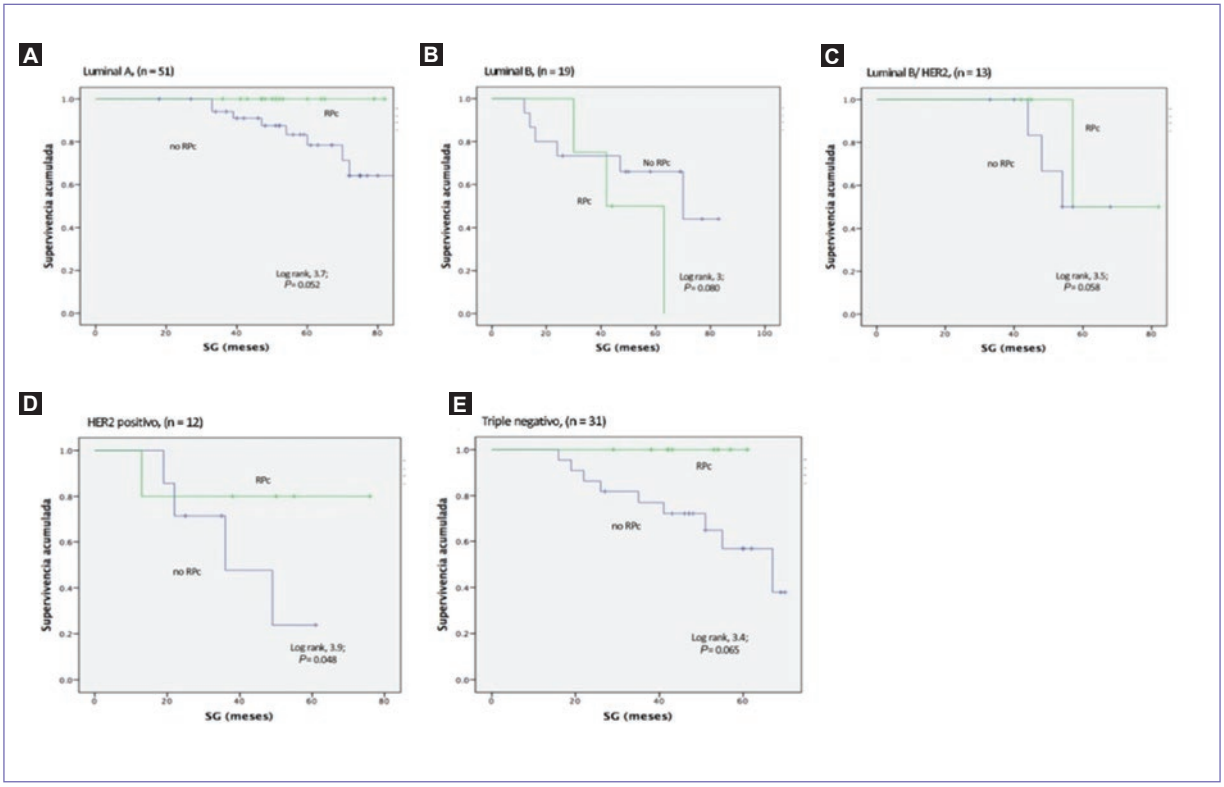



**Figura 4.** Diferencias en la SG según la RPc asociado al subtipo molecular en pacientes con cáncer de mama avanzado: **(A)** luminal A; **(B)** luminal B; **(C)** luminal B/HER2; **(D)** HER2 positivo y **(E)** triple negativo.

**Tabla 2.** Correlación de la respuesta patológica posquimioterapia con la clasificación molecular

| Respuesta patológica posquimioterapia | No RPc | | RPc | |
|---|---|---|---|---|
| **Subtipo molecular** | **n (%)** | **IC 95%** | **n (%)** | **IC 95%** |
| Luminal A | 36 (70.6) | 57.8-83.3 | 15 (29.4) | 16.7-42.2 |
| Luminal B/ HER2- | 15 (78.9) | 60.2-97.7 | 4 (21.1) | 2.3-39.8 |
| Luminal B/ HER2+ | 8 (61.5) | 34.6-88.5 | 5 (38.5) | 11.5-65.4 |
| HER2 positivo | 7 (58.3) | 29.9-86.8 | 5 (41.7) | 13.2-70.1 |
| Triple negativo | 22 (71.0) | 54.7-87.3 | 9 (29.0) | 12.7-45.3 |
| **Comparación de los subtipos moleculares** | **Correlación estadística de la RPc vs. no RPc, valores de p** | | | |
| Luminal A vs. luminal B/HER- | | | 0.484 | |
| Luminal A vs. luminal B/HER2+ | | | 0.529 | |
| Luminal A vs. HER2+ | | | 0.411 | |
| Luminal A vs. triple negativo | | | 0.970 | |
| LB/ HER2- vs. LB/HER2+ | | | 0.282 | |
| LB/ HER2- vs. HER2+ | | | 0.218 | |
| LB/ HER2- vs. triple negativo | | | 0.532 | |
| Luminal B/HER2+ vs. HER2+ | | | 0.870 | |
| Luminal B/HER2+ vs. triple negativo | | | 0.540 | |
| HER2+ vs. triple negativo | | | 0.427 | |

RPc: respuesta patológica completa; LB: Luminal B.

**Tabla 3.** *Odds ratios* y características clinicopatológicas por subtipo molecular (n = 126)

| Variable | LA | LB | | LB/HER2 | | HER2 | | TN | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ref. | OR* | p | OR* | p | OR* | p | OR* | p |
| Edad (años): < 50 vs. > 50 | 1 | 1.3 | 0.607 | 0.8 | 0.756 | 0.9 | 0.951 | 0.6 | 0.281 |
| Tumor clínico: T2-3 vs. T4 | 1 | 4.5 | 0.008 | 1.6 | 0.440 | 5.2 | 0.016 | 3.2 | 0.015 |
| Ganglio clínico: N1 vs N2-3 | 1 | 2.1 | 0.166 | 1.8 | 0.344 | 4.6 | 0.034 | 1.8 | 0.170 |
| Grado tumoral: G2 vs. G3 | 1 | 48.0 | 0.000 | 1.0 | 0.927 | 10.4 | 0.003 | 1.5 | 0.299 |
| Carcinoma: Lobular vs. ductal | 1 | 13.1 | 0.001 | 8.5 | 0.009 | 4.6 | 0.034 | 8.0 | 0.000 |
| Invasión LV: No vs. Sí | 1 | 4.4 | 0.009 | 1.4 | 0.592 | 0.6 | 0.609 | 1.1 | 0.816 |

*OR: ajustada por edad, tumor, ganglio, grado, carcinoma e invasión LV.
LA: luminal A; LB: luminal B/HER2 negativo; LB/HER2: luminal B/HER2 positivo; HER2: receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano; TN: triple negativo; Ref.: referencia; OR: odds ratio; LV: linfovascular;

**Tabla 4.** Correlación de la clasificación molecular con los pN y supervivencia correspondiente

| Subtipo molecular | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Estrato por pN** | **LA** | **LB** | **LB/HER2** | **HER2** | **TN** | **Total** |
| | **n = 51 (%)** | **n = 19 (%)** | **n = 13 (%)** | **n = 12 (%)** | **n = 31 (%)** | **n = 126 (%)** |
| ypN0: 0 | 29 (56.8) | 8 (42.1) | 6 (46.2) | 5 (41.7) | 16 (51.6) | 64 (50.8) |
| ypN1: 1-3 | 11 (21.6) | 3 (15.8) | 3 (23.0) | 2 (16.6) | 5 (16.1) | 24 (19.0) |
| ypN2-3: > 4 | 11 (21.6) | 8 (42.1) | 4 (30.8) | 5 (41.7) | 10 (32.3) | 38 (30.2) |
| **SG a 5 años** | **(%)** | **(%)** | **(%)** | **(%)** | **(%)** | **(%)** |
| ypN0: 0 | 100.0 | 53.6 | 66.7 | 80.0 | 100.0 | 75 |
| ypN1: 1-3 | 72.7 | 100.0 | 66.7 | 0.0 | 50.0 | 70 |
| ypN2-3: > 4 | 50.0 | 50.0 | 0.0 | 40.0 | 18.0 | 37 |

LA: luminal A; LB: luminal B/HER2 negativo; LB/HER2: luminal B/HER2 positivo; HER2: receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano; TN: triple negativo; pN: ganglio patológico; SG: supervivencia global.

**Tabla 5.** Impacto pronóstico de las características clinicopatológicas por subtipo molecular en la SG mediante análisis multivariado de Cox (n = 126)

| Análisis mutivariante | LA | | LB | | LB/HER2+ | | HER2 | | TN | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | HR* | p | HR* | p | HR* | p | HR* | p | HR* | p |
| Etapa: IIIA vs. IIIB | 2.8 | 0.012 | 2.4 | 0.033 | 2.5 | 0.032 | 2.6 | 0.025 | 2.4 | 0.036 |
| pN: pN0 vs. pN > 4 | 3.9 | 0.006 | 3.7 | 0.008 | 3.9 | 0.006 | 3.5 | 0.010 | 3.4 | 0.012 |
| Grado: G2 vs. G3 | 1.2 | 0.677 | 2.4 | 0.097 | 2.3 | 0.100 | 1.9 | 0.199 | 2.2 | 0.107 |

*HR: ajustado a edad, etapa, grado, histología y pN.
SG: supervivencia global; LA: luminal A; LB: luminal B; LB/HER2+: luminal B/HER2 positivo; HER2: receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano; TN: triple negativo; HR: *hazard ratio*; L: lobular; D: ductal; pN: ganglio patológico.

tumores luminales (LA, LB/HER2- y LB/HER2+) con HR de 3.9 (p = 0.006), 3.7 (p = 0.008) y 3.9 (p = 0.006), respectivamente.

El otro predictor independiente fue el estadio IIIB en todos los subtipos, el riesgo de muerte en los LB/HER2- y LB/HER2+ fue similar a los tumores del grupo RH- (HER2 y TN), con HR de 2.4 a 2.5 vs. 2.4 a 2.6, respectivamente (Tabla 5).

Los tumores indiferenciados fueron predictores de mal pronóstico (diferencias no significativas), el riesgo de muerte fue ligeramente mayor en el grupo RH+ (LB/HER2- y LB/HER2+) en comparación al grupo RH- (HER2+ y TN), con HR de 2.3 a 2.4 vs. 1.9 a 2.2, respectivamente (Tabla 5).

Para la cohorte entera se observó un seguimiento mediano de 50 meses (límites, 12 a 83 meses), con un periodo de 6,535 persona-año. Durante este periodo, 51 pacientes (40.4%) tuvieron recidivas a distancia y 35 murieron (27.7%).

La aparición de metástasis a distancia de acuerdo con el subtipo molecular, no obstante la RPc, ocurrieron en mayor frecuencia a pesar del buen pronóstico en la población LA (27.7%), seguido de los tumores LB/HER2- (25.5%) y TN (21.3%), esto se reflejó directamente en la mayor proporción de muertes (22.9%, 25.7% y 25.7%, respectivamente).

Para la cohorte entera, el grupo con RPc presentó recidivas a distancia en 26.3% (10/38) de los casos. Al estratificar por subtipo la RPc, el subtipo LB/HER2- presentó el segundo lugar en recidivas en el grupo tumor residual (24.3%) y el mayor porcentaje (30%) en el grupo RPc. En contraste, las pacientes del grupo tumor residual posquimioterapia presentaron un mayor porcentaje (53.4%, 47/88 casos) de recidivas a distancia, del cual el 86% han

muerto. Un 14% de las muertes ocurrió en el grupo RPc, donde el tumor LB/HER2- tuvo el mayor porcentaje de muertes (60%) hasta el cierre de este registro.

## Discusión

El estudio de los biomarcadores (RE, RPg y HER2) por IHQ no tiene el nivel de evidencia suficiente para suplir a la clasificación genómica. Sin embargo, un estudio ha demostrado que pueden ser utilizados los sustitutos por IHQ con una sensibilidad del 76% y una especificidad del 100%[23]. Los subtipos definidos por criterios clinicopatológicos y por IHQ son similares, pero no idénticos, a los subtipos intrínsecos, sin embargo, representan una aproximación válida[7,10-19,23,26].

El uso de cientos de genes intrínsecos ha mostrado que los genes relacionados al fenotipo RE y HER2 tienen una identificación estable, por lo que la subdivisión molecular primaria se basa en el estado del RE[11,14,16,17,26]. Los tumores LA y LB/HER2- (o LB) son los principales subtipos moleculares identificados entre los genes relacionados al RH+ y la discriminación más significativa entre estos subtipos con RE+ es la expresión de proliferación[11,14,16,26]. El índice de proliferación de Ki-67 discrimina el subtipo LA de LB; se puede utilizar una evaluación alternativa de la proliferación tumoral como es el grado para distinguir entre LA y LB (HER2-)[17], estas dos entidades moleculares han mostrado diferencias en la sensibilidad a la quimioterapia y en el pronóstico[7,14,16-19,26,27].

Los tumores HER2+ y basal son los principales subtipos moleculares identificados entre los RE- en cáncer de mama[11,17,22,27-29]. En estos subtipos quienes presentan altos niveles de linfocitos infiltrantes del tumor son predictores de la respuesta a la QN con un incremento en la tasa de RPc[19,22,27,30] y la respuesta completa clínica y patológica depende del subtipo molecular[27].

No toda respuesta clínica completa muestra una RPc, una masa palpable puede ser solo fibrosis o persistencia celular maligna tras la QN. Algunos subtipos se caracterizan por tener una mejor respuesta a la QN.

El fenotipo HER2+/RH- es el que tiene mayor oportunidad de lograr una RPc en comparación con el fenotipo HER2+/RH+. La proporción de RPc se ha incrementado con el uso de QN**,** particularmente en las pacientes con tumores HER2+ que reciben terapia monoclonal dirigida anti-HER2 simultánea con QN[3,4,7,17,27,31,32]. El ensayo NeoALTTO mostró una tasa superior de RPc (51.3%) en la terapia dual (trastuzumab-lapatinib) comparado con solo trastuzumab (29.5%) o lapatinib (24.7%)[31]. Algunos estudios han identificado otros subtipos moleculares, como el luminal C y los grupos que asemejan a la mama normal no están bien caracterizados como los otros[11-13,29].

Otro subtipo que también presenta un alto porcentaje de RPc (21.1 a 35.8%)[6,26-29,31] es el subtipo TN, aunque tiene alta sensibilidad a la QN representa el subtipo de peor pronóstico sobre todo en quienes presentan tumor residual. A pesar de las características clínicas y patológicas que asemejan el TN con el basal, este último se considera un carcinoma heterogéneo que puede subdividirse en al menos cinco o seis subgrupos distintos y con respuestas diferentes[11,22,27,33].

Varios ensayos recomiendan el uso de citoqueratinas basales (CK5/6) por su alta expresión (50-80%)[17,23,28,29], así como la inclusión de vimentina y P-cadherina, que abarcaría a la gran mayoría de los casos TN[23]. Los genes asociados con una RPc son diferentes entre los subtipos basal y HER2+, lo que sugiere que los mecanismos de sensibilidad a la quimioterapia pueden variar entre los subtipos[14,22].

Las pacientes con subtipo LB requieren de un mayor reto en el tratamiento debido a que presentan mayor tasa de tumor residual tras la QN. En nuestra cohorte estos tumores tienen una mayor probabilidad de ser carcinomas ductales asociados a cT4 (OR de 13.1 y 4.5, respectivamente). La presencia del carcinoma lobular en la RPc y tumor residual fue diferente (25% vs. 6.7%, respectivamente; p = 0.386), la diferencia no fue significativa (sensibilidad: 75%; especificidad: 6.6%; VPP: 17.6% y VPN: 50%). Debido a la baja tasa de RPc en este subtipo, se requiere de opciones terapéuticas con mayor eficacia.

El grado histológico también es un factor predictor de la respuesta a la QN[8-10]. Nuestros datos mostraron que en las pacientes con tumores grado 2, un 34.6% (27/78) de las respondedoras mostraron una RPc. Del grupo previo, las pacientes con tumores LA (15/27, 55.6%) y TN (7/27, 25.9%) fueron quienes mejor obtuvieron una RPc. En el grupo tumor residual, el grado 3 estuvo presente en un 42% (37/88) de los casos.

Las pacientes con tumores RE- (HER2+ y TN) tienden a tener una mayor tasa de RPc (43 a 58%) posteriormente a la QN[7,14-19,27]. Los datos de nuestra cohorte concuerdan con los datos previos, las pacientes con fenotipo RE+ (LA y LB) presentaron menor tasa de RPc (21 a 29.4%). Observamos una mejor tasa de RPc (29 a 41.7%) en el grupo con fenotipo RE- (TN y HER2+).

Tras recibir E-D secuencial neoadyuvante, la tasa de RPc fue diferente en los 5 subtipos moleculares, quienes tuvieron mayor fuerza de asociación en obtener una RPc fueron los tumores HER2+ y LB/HER2+ que

aquellas con fenotipo luminal (LA y LB) y TN. La evidencia de las diferentes respuestas completas y parciales en los subtipos en esta cohorte también sugiere que la sensibilidad a la quimioterapia varia en los subtipos.

Contrario a otros estudios[7,14,19], en esta investigación los tumores LA se asociaron a una mejor tasa de RPc, quizás a un mayor número de casos con carcinoma lobular (8 de los 12 casos con RPc) y para esta cohorte de estudio la RPc al parecer no sería un marcador de la SG en los subtipos LB/HER2- y LB/HER2+.

La RPc se correlaciona con una mejor supervivencia[7,8,18,19,22,27,32]. Sin embargo, aproximadamente un 20% de los casos sin invasión ganglionar y hasta en un 60-70% de los casos con invasión ganglionar experimentan una recidiva sistémica tras recibir quimioterapia a base de antraciclinas[34-36]. En este estudio, varias pacientes con RPc tuvieron una tasa de recidiva del 26.3% tras recibir E-D secuencial. Del grupo RPc, los subtipos LA y LB/HER2- tuvieron el mayor porcentaje de recidivas (30%). El subtipo LB/HER2- fue uno de los subtipos con mayor porcentaje de recidivas tanto en las pacientes con tumor residual como en el grupo con RPc.

Las principales debilidades del estudio son el análisis retrospectivo, la limitada reproducibilidad de la técnica y la interpretación subjetiva, lo que permite determinar el comportamiento clínico en los diferentes subtipos moleculares del tumor primario. Ante estas circunstancias, para este estudio hubo evidencia robusta al observar una significativa mejor tasa en la SLE de todos los subtipos en quienes obtuvieron una RPc que aquellas con tumor residual.

La fortaleza de este reporte reside en que se estudió a una cohorte de pacientes en etapa avanzada (estadio III) de una población homogénea (no caucásica), y que todas las pacientes recibieron una dosis uniforme de QN a base de E-D secuencial seguido de cirugía y radioterapia, todo ello llevado a cabo en una única institución. La hipótesis principal fue determinar que la sensibilidad a la QN con E-D secuencial es diferente en la RPc en cada subtipo molecular.

Los subtipos moleculares del CMLA tienen un importante valor predictivo de la respuesta a la QN y un valor pronóstico diferente en la supervivencia[7,11,14,16-19]. En esta cohorte los cinco subtipos moleculares también tuvieron diferencias en la SG. Solamente las pacientes con tumores HER2+ asociados a RPc obtuvieron un beneficio significativo tanto en la SLE como en la SG. Por otra parte, en términos de SG, las pacientes con enfermedad residual en el grupo HER2 (HER2+, 24%; LB/HER2+, 50%) seguido de los TN (57%) mostraron el peor pronóstico.

## Conclusión

Al igual que en otros estudios hemos utilizado los marcadores básicos (RE, RPg y HER2) con el método de IHQ para categorizar las clases o subtipos moleculares del CMLA. En la aplicación de los estudios genómicos aún existen problemas, una matriz genómica tiene limitaciones por la dificultad técnica, el costo alto y el tipo de clasificación molecular, por lo que varios estudios de investigación consideran la expresión de varios biomarcadores por IHQ de los carcinomas como una alternativa válida. Por ejemplo, los consensos tienen dilemas respecto a qué marcadores de IHQ deben utilizarse o qué subtipos son más susceptibles para ambos métodos.

La estrecha asociación del estado del RE, el RPg y el HER2, junto con el grado tumoral, permiten que la clasificación molecular por IHQ sea similar, aunque no idéntica, al perfil génico. La variabilidad de resultados en la tasa de RPc relacionados al subtipo molecular justifica el desarrollo de ensayos clínicos dirigidos para homogeneizar estrategias de clasificación e identificar enfoques terapéuticos en el manejo del CMLA de cada subtipo molecular, en especial en aquellos carcinomas con resistencia terapéutica (p. ej., la población de tumores LB/HER2-), lo que podría revelar nuevos objetivos terapéuticos.

## Conflicto de Intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses en el presente trabajo.

## Agradecimientos

A cada una de las pacientes, por proporcionarnos la valiosísima información que nos permitió realizar este estudio. A las secretarias Guadalupe, Gisela y Estefanía por su apoyo en la recopilación de datos.

## Reconocimiento

Este trabajo obtuvo el primer lugar en Trabajos Libres Presentación Oral en el XXXV Congreso Nacional de Oncología llevado a cabo del 17 al 21 de octubre de 2017 en Querétaro, Qro., México.

## Bibliografía

1. von Minckwitz G, Raab G, Caputo A, et al. Doxorubicin with cyclophosphamide followed by docetaxel every 21 days compared with doxorubicin and docetaxel every 14 days as preoperative treatment in operable breast cancer: the GEPARDUO study of the German Breast Group. J Clin Oncol. 2005;23:2676-85.

2. Bear HD, Anderson S, Smith RE, et al. Sequential preoperative or postoperative docetaxel added to preoperative doxorubicin plus cyclophosphamide: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. J Clin Oncol. 2006;24:2019-27.
3. Buzdar AU, Valero V, Ibrahim NK, et al. Neoadjuvant therapy with paclitaxel followed by 5-fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide chemotherapy and concurrent trastuzumab in human epidermal growth factor receptor 2-positive operable breast cancer: an update of the initial randomized study population and data of additional patients treated with the same regimen. Clin Cancer Res. 2007;13:228-33.
4. Kaufmann M, Hortobagyi GN, Goldhirsch A, et al. Recommendations from an international expert panel on the use of neoadjuvant (primary) systemic treatment of operable breast cancer: an update. J Clin Oncol. 2006;24:1940-9.
5. Ramírez-Torres N, Moctezuma-Meza C, Asbun-Bojalil J, et al. Análisis de la efectividad del tratamiento neoadyuvante al añadir docetaxel secuencial a fluorouracilo, epirubicina y ciclofosfamida en pacientes con cáncer de mama avanzado: resultados preliminares de respuesta tumoral. GAMO. 2015;14:3-12.
6. Rastogi P, Anderson SJ, Bear HD, et al. Preoperative chemotherapy: updates of National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocols B-18 and B-27. J Clin Oncol. 2008;26:778-85.
7. von Minckwitz G, Untch M, Blohmer JU, et al. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. J Clin Oncol. 2012;30:1796-1804.
8. Corben AD, Abi-Raad R, Popa I, et al. Pathologic response and long-term follow-up in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy: a comparison between classifications and their practical application. Arch Pathol Lab Med. 2013;137:1074-82.
9. Sahoo S, Lester SC. Pathology of breast carcinomas after neoadjuvant chemotherapy: an overview with recommendations on specimen processing and reporting. Arch Pathol Lab Med. 2009;133:633-42.
10. Schnitt SJ. Classification and prognosis of invasive breast cancer: from morphology to molecular taxonomy. Modern Pathology. 2010;23:560-4.
11. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. Nature. 2000;406:747-52.
12. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. Proc Natl Acad Sci USA. 2001;98:10869-74.
13. Sotiriou C, Pusztai L. Gene-expression signatures in breast cancer. N Engl J Med. 2009;360:790-800.
14. Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. Clin cancer Res. 2005;11:5678-85.
15. Goldstein NS, Decker D, Severson D, et al. Molecular classification system identifies invasive breast carcinoma patients who are most likely and those who are least likely to achieve a complete pathologic response after neoadjuvant chemotherapy. Cancer. 2007;110:1687-96.
16. Cheang MCU, Chia SK, Voduc D, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. J Natl Cancer Inst. 2009;101:736-50.
17. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, et al. Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. Ann Oncol. 2011;22:1736-47.
18. Criscitiello C, Disalvatore D, De Laurentiis M, et al. High Ki-67 score is indicative of a greater benefit from adjuvant chemotherapy when added to endocrine therapy in Luminal B/HER2 negative and node-positive breast cancer. Breast. 2014;23:69-75.
19. Balmativola D, Marchio C, Maule M, et al. Pathological non-response to chemotherapy in a neoadjuvant setting of breast cancer: an inter-institutional study. Breast Cancer Res Treat. 2014;148:511-23.
20. Mitchison TJ. The proliferation rate paradox in antimitotic chemotherapy. Mol Biol Cell. 2012;23:1-6.
21. Greene FL, Page DL, Fleming ID, et al., editors. AJCC Cancer staging manual, 6th edition. New York: Springer; 2002.
22. Kreike B, van Kouwenhove M, Horlings H, et al. Gene expression profiling and histopathological characterization of triple-negative/basal-like breast carcinomas. Breast Cancer Res. 2007;9:R65.
23. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. Clin Cancer Res. 2004;10:5367-74.
24. Bland JM, Altman DG. Survival probabilities (the Kaplan-Meier method). BMJ. 1998;317:1572.
25. Cox DR. Regression models and life tables. J Ray Statist Soc B. 1972;34:187-220.
26. Cuzick J, Dowsett M, Pineda S, et al. Prognostic value of a combined estrogen receptor, progesterone receptor, Ki-67, and human epidermal growth factor receptor 2 immunohistochemical score and comparison with the genomic health recurrence score in early breast cancer. J Clin Oncol. 2011;29:4273-8.
27. Loibl S, von Minckwitz G, Untch M, et al. Predictive factors for response to neoadjuvant therapy in breast cancer. Oncol Res Treat. 2014;37: 563-8.
28. Cheang MC, Voduc D, Bajdik C, et al. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. Clin Cancer Res. 2008;14:1368-76.
29. Rakha EA, Elsheikh SE, Aleskandarany MA, et al. Triple-Negative breast cancer: distinguishing between basal and nonbasal subtypes. Clin Cancer Res. 2009;15:2302-10.
30. Vinayak S, Gray RJ, Adams S, et al. Association of increased tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) with immunomodulatory (IM) triple-negative breast cancer (TNBC) subtype and response to neoadjuvant platinum-based therapy in PrE- COG0105. J Clin Oncol. 2014;32:S1000.
31. Baselga J, Bradbury I, Eidtmann H, et al. Lapatinib with trastuzumab for HER2-positive early breast cancer (NeoALTTO): a randomized, open-label, multicenter, phase 3 trial. Lancet. 2012;379:633-40.
32. Houssami N, Macaskill P, von Minckwitz G, et al. Meta-analysis of the association of breast cancer subtype and pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy. Eurp J Cancer. 2012;48:3342-54.
33. Masuda H, Baggerly KA, Wang Y, et al. Differential response to neoadjuvant chemotherapy among 7 triple-negative breast cancer molecular subtypes. Clin Cancer Res. 2013;19:5533-40.
34. Veronesi U, Galimberti V, Zurrida S, et al. Prognostic significance of number and level of axillary nodal metastases in breast cancer. Breast. 1993;2:224-8.
35. González-Angulo AM, McGuire SE, Buchholz TA, et al. Factors predictive of distant metastases in patients with breast cancer who have a pathologic complete response after neoadjuvant chemotherapy. J Clin Oncol. 2005;23:7098-104.
36. Ramírez-Torres N, Pérez-Puentes A, Rivas-Ruiz R, et al. Impacto pronóstico de la respuesta patológica completa y del estado ganglionar en pacientes con cáncer de mama avanzado tratadas con dosis alta de epirubicina neoadyuvante. GAMO. 2016;15:128-37.