



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

Universidad Autónoma de Barcelona

Departamento de Medicina

Facultad de Medicina

Programa Doctorado en Medicina

**Implicaciones pronósticas y terapéuticas
del receptor del factor de crecimiento
fibroblástico en pacientes con cáncer de
mama metastásico**

José Manuel Pérez García

Barcelona, 2015

Universidad Autónoma de Barcelona
Departamento de Medicina
Facultad de Medicina

Programa Doctorado en Medicina



**Implicaciones pronósticas y terapéuticas
del receptor del factor de crecimiento
fibroblástico en pacientes con cáncer de
mama metastásico**

TESIS DOCTORAL

Director de la tesis: Javier Cortés Castán

Codirector de la tesis: Josep Maria Suriñach Caralt

Tutor de la tesis: Jordi Giralt López de Sagredo

José Manuel Pérez García
Barcelona, octubre de 2015

A mi padre

A Eva

A Paula y Carlota

A mi madre

A mis hermanas

A las pacientes

*«Lo que una vez disfrutamos, nunca lo perdemos.
Todo lo que amamos profundamente se convierte en parte de nosotros mismos»*

Helen Keller

Agradecimientos

En primer lugar, esta tesis va dedicada especialmente para ti, por cuidarme, por enseñarme, por quererme tanto y dármelo todo. Te echo mucho de menos y sigo continuamente buscando las estrellas que pintas cada día. Te quiero, papá.

A mi mujer, Eva, y a mis hijas, Paula y Carlota, porque sin vosotras no hay vida, por generarme ilusión, por dar sentido a lo que hago y por vuestro apoyo incondicional. Siento enormemente el tiempo que os roba mi trabajo; nunca tendré forma de poder recompensároslo. Os quiero mucho.

A mi madre, mis hermanas, Patricia, Arancha y Ana, y Martín, por soportarme, cuidarme y quererme tal y como soy. Gracias, gracias, gracias.

A mis suegros, Margarita y Joaquín, y a Adela, por su constante apoyo y cariño.

A todos mis compañeros de la Unidad de Mama del Hospital Vall d'Hebron, en especial a la Dra. Meritxell Bellet, por compartir su sabiduría conmigo, ser generosa, acompañarme durante mi residencia y darme confianza, y sobre todo al Dr. Javier Cortés, un excelente jefe y director de tesis, pero muchísimo mejor persona, amigo, padrino, y un hermano mayor y padre cuando más lo he necesitado. Eres mi ángel de la guarda y me has ayudado a hacer dulces los momentos más amargos de mi vida. Gracias, majete.

A todo el Servicio de Oncología Médica del Hospital Vall d'Hebron, y a los Dres. Josep Baselga, Joan Carles y Josep Tabernero por ser partícipes fundamentales en mi formación como médico y persona, y por estar siempre disponibles. Gracias, jefes.

Al Dr. Josep Maria Suriñach, codirector de esta tesis, por su inestimable ayuda, su predisposición y por permitir que este trabajo sea una realidad.

Al equipo de Core del VHIO, Ana, Paolo, Ludmila, Claudia y José, y cómo no, a Alba y a Marta. Parte de esta tesis es vuestra y os estaré siempre agradecido. Gracias, chicos.

A Mamen, por su valioso soporte y sus consejos en la edición de esta tesis. Está preciosa. Millones de gracias.

A Guillermo, Pati, Edu, Paco, Vicente, Octavi, Sergi y Esther, porque los amigos se cuentan con los dedos de una mano. Os merecéis todo lo mejor.

Y cómo no, a las pacientes, porque su lucha y ganas de vivir son la base fundamental sobre la que se sustenta mi trabajo.

SUMARIO

1. Introducción	12
1.1. Epidemiología	12
1.2. Factores de riesgo	15
1.3. Anatomía patológica	15
1.4. Factores pronósticos clínicos e histopatológicos	16
1.4.1. Invasión ganglionar axilar	16
1.4.2. Tamaño tumoral	17
1.4.3. Tipo histológico	17
1.4.4. Grado histológico	17
1.4.5. Invasión linfovascular tumoral	17
1.4.6. Receptores hormonales	18
1.4.7. HER2	18
1.4.8. Índice proliferativo Ki67	18
1.4.9. Edad de la paciente	19
1.5. Subtipos de cáncer de mama por el perfil de expresión génica	19
1.6. Evolución natural y manifestaciones clínicas del cáncer de mama	21
1.7. Diagnóstico del cáncer de mama	25
1.8. Estadificación del cáncer de mama	27
1.9. <i>Screening</i> del cáncer de mama	29
2. Tratamiento del cáncer de mama invasivo	31
2.1. Cáncer de mama localizado	31
2.1.1. Tratamiento quirúrgico	31
2.1.2. Tratamiento adyuvante	34
2.1.2.1. Generalidades	34
2.1.2.2. Quimioterapia	37
2.1.2.3. Terapias dirigidas (trastuzumab)	39
2.1.2.4. Hormonoterapia	40
2.1.2.5. Radioterapia	43
2.2. Cáncer de mama localmente avanzado	44
2.3. Cáncer de mama metastásico	47

3. Receptor del factor de crecimiento fibroblástico	51
3.1. Vía de señalización del FGFR y los factores de crecimiento fibroblástico	51
3.2. Alteraciones moleculares en la vía de señalización del FGFR/FGF en pacientes con cáncer de mama.....	53
3.2.1. Amplificación del gen del <i>FGFR1</i>	53
3.2.2. Amplificación del gen del <i>FGFR2</i>	54
3.2.3. Amplificación de los genes del <i>FGFR3</i> y del <i>FGFR4</i>	54
3.2.4. Amplificación del amplicón 11q	55
3.2.5. Mutaciones activantes	55
3.3. Relevancia clínica de las alteraciones moleculares en la vía de señalización del FGFR/FGF en pacientes con cáncer de mama.....	56
3.4. Opciones terapéuticas sobre los FGFR	57
3.5. Otros aspectos relevantes relacionados con la vía de señalización del FGFR/FGF y la inhibición de la misma.....	61
3.5.1. La vía de señalización del FGFR/FGF como mecanismo de resistencia a tratamiento antiangiogénico.....	61
3.5.2. La inhibición de la vía de señalización del FGFR/FGF puede promover una mayor eficacia del tratamiento hormonal	61
3.5.3. Determinación de la amplificación de los genes del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i> en la práctica clínica	62
3.5.4. Desarrollo de factores predictivos de respuesta a inhibidores de los FGFR	63
3.5.5. Manejo de la hiperfosfatemia	64
3.5.6. Combinación de los inhibidores de los FGFR con otras terapias dirigidas	64
 4. Justificación del trabajo	 66
 5. Hipótesis	 68
5.1. Principales	68
5.2. Secundarias	68
 6. Objetivos	 69
6.1. Primarios	69
6.2. Secundarios	69

7. Métodos	70
7.1. Tipo de estudio	70
7.2. Selección de la muestra	70
7.3. Análisis de la amplificación de los genes del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i> y definición de polisomía en ausencia de amplificación del gen	70
7.4. Variables clínico-patológicas recogidas	71
7.5. Análisis adicional de otras alteraciones moleculares	73
7.6. Análisis estadístico	73
7.6.1. Estadística descriptiva y análisis univariante de las variables cualitativas	74
7.6.2. Estadística descriptiva y análisis univariante de las variables cuantitativas	74
7.6.3. Análisis de variables pronósticas	74
8. Resultados	77
8.1. Características basales de la población global del estudio.....	77
8.2. Incidencia de la amplificación de los genes del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i> en nuestra población de pacientes con cáncer de mama metastásico	79
8.3. Concordancia entre el estado de la amplificación de los genes del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i>	80
8.4. Correlación entre la amplificación de los genes del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i> con las características clínico-patológicas	81
8.5. Incidencia de la polisomía de los genes del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i> en ausencia de amplificación de ambos genes y su correlación con las características clínico-patológicas.....	85
8.6. Impacto pronóstico del estado del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i> , del estado de la polisomía de los genes del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i> y de la presencia de alteraciones a nivel del <i>FGFR</i> , a nivel del gen del <i>FGFR1</i> y a nivel del gen del <i>FGFR2</i>	89
8.6.1. Seguimiento	89
8.6.2. Supervivencia libre de enfermedad	89
8.6.2.1. Población global	89
8.6.2.2. Supervivencia libre de enfermedad en función del estado del <i>FGFR1</i>	90
8.6.2.3. Supervivencia libre de enfermedad en función del estado del <i>FGFR2</i>	91
8.6.2.4. Supervivencia libre de enfermedad en función del estado de la polisomía de los genes del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i>	92

8.6.2.5. Supervivencia libre de enfermedad en función de la presencia de alteraciones a nivel del <i>FGFR</i> , a nivel del gen del <i>FGFR1</i> y a nivel del gen del <i>FGFR2</i>	93
8.6.3. Supervivencia global	93
8.6.3.1. Población global	93
8.6.3.2. Supervivencia global en función del estado del <i>FGFR1</i>	94
8.6.3.3. Supervivencia global en función del estado del <i>FGFR2</i>	95
8.6.3.4. Supervivencia global en función del estado de la polisomía de los genes del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i>	96
8.6.3.5. Supervivencia global en función de la presencia de alteraciones a nivel del <i>FGFR</i> , a nivel del gen del <i>FGFR1</i> y a nivel del gen del <i>FGFR2</i>	98
8.6.4. Tiempo libre de progresión de la primera línea de tratamiento hormonal....	100
8.6.5. Análisis univariante y multivariante de supervivencia libre de enfermedad	101
8.6.6. Análisis univariante y multivariante de supervivencia global	104
8.7. Asociación entre la amplificación de los genes del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i> con otras alteraciones moleculares	107
8.8. Concordancia en el estado de la amplificación de los genes del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i> entre el tumor primario y las metástasis	109
8.9. Importancia de un programa de <i>pre-screening</i> molecular en la inclusión de pacientes en estudios clínicos con inhibidores de los FGFR	113
9. Discusión	117
9.1. Incidencia de la amplificación de los genes del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i> en nuestra población de pacientes con cáncer de mama metastásico	118
9.2. Concordancia entre el estado de la amplificación de los genes del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i>	122
9.3. Correlación entre la amplificación de los genes del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i> con las características clínico-patológicas	123
9.4. Incidencia de la polisomía de los genes del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i> en ausencia de amplificación de ambos genes y su correlación con las características clínico-patológicas	124
9.5. Impacto pronóstico del estado del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i> , del estado de la polisomía de los genes del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i> y de la presencia de alteraciones a nivel del <i>FGFR</i> , a nivel del gen del <i>FGFR1</i> y a nivel del gen del <i>FGFR2</i>	126
9.6. Asociación entre la amplificación de los genes del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i> con otras alteraciones moleculares	129

9.7. Concordancia en el estado de la amplificación de los genes del <i>FGFR1</i> y del <i>FGFR2</i> entre el tumor primario y las metástasis	131
9.8. Importancia de un programa de <i>pre-screening</i> molecular en la inclusión de pacientes en estudios clínicos con inhibidores de los FGFR	133
9.9. Expectativas de futuro	135
10. Conclusiones	139
11. Referencias	141
Índice de tablas	161
Índice de figuras	163
Índice de abreviaturas	164

1. Introducción

1.1. Epidemiología

El cáncer de mama es el tumor maligno más frecuente en las mujeres, cuya incidencia presenta una tendencia creciente en los últimos años, probablemente debido a múltiples factores, entre los que destacan la implementación de los programas de cribado o *screening* poblacional y los cambios en los hábitos nutricionales y reproductivos. Sin embargo, al mismo tiempo, la mortalidad por cáncer de mama ha ido disminuyendo gracias al progresivo avance de los tratamientos oncológicos, al mejor conocimiento de la biología tumoral y, sobre todo, a la instauración de estos programas de *screening*, los cuales permiten un diagnóstico más precoz de la enfermedad y, por lo tanto, un abordaje en etapas más iniciales de la misma [1].

La Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO, del inglés American Society of Clinical Oncology) estimó que en los Estados Unidos se diagnosticarían durante el año 2014 alrededor de 235.000 casos de cáncer de mama invasivo y alrededor de 40.000 pacientes fallecerían a causa de esta enfermedad. Además, durante el año 2013 se diagnosticaron más de 60.000 casos de carcinoma ductal *in situ* y/o carcinoma lobulillar *in situ* en este país [2].

Recientemente se han publicado los datos del estudio EUROCORE-5, en el que se analizó la supervivencia por cáncer en Europa en el período 1999-2007, según el país y la edad, y que constituye el estudio de base poblacional más importante sobre supervivencia por cáncer llevado a cabo en nuestro continente [3]. De manera global, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

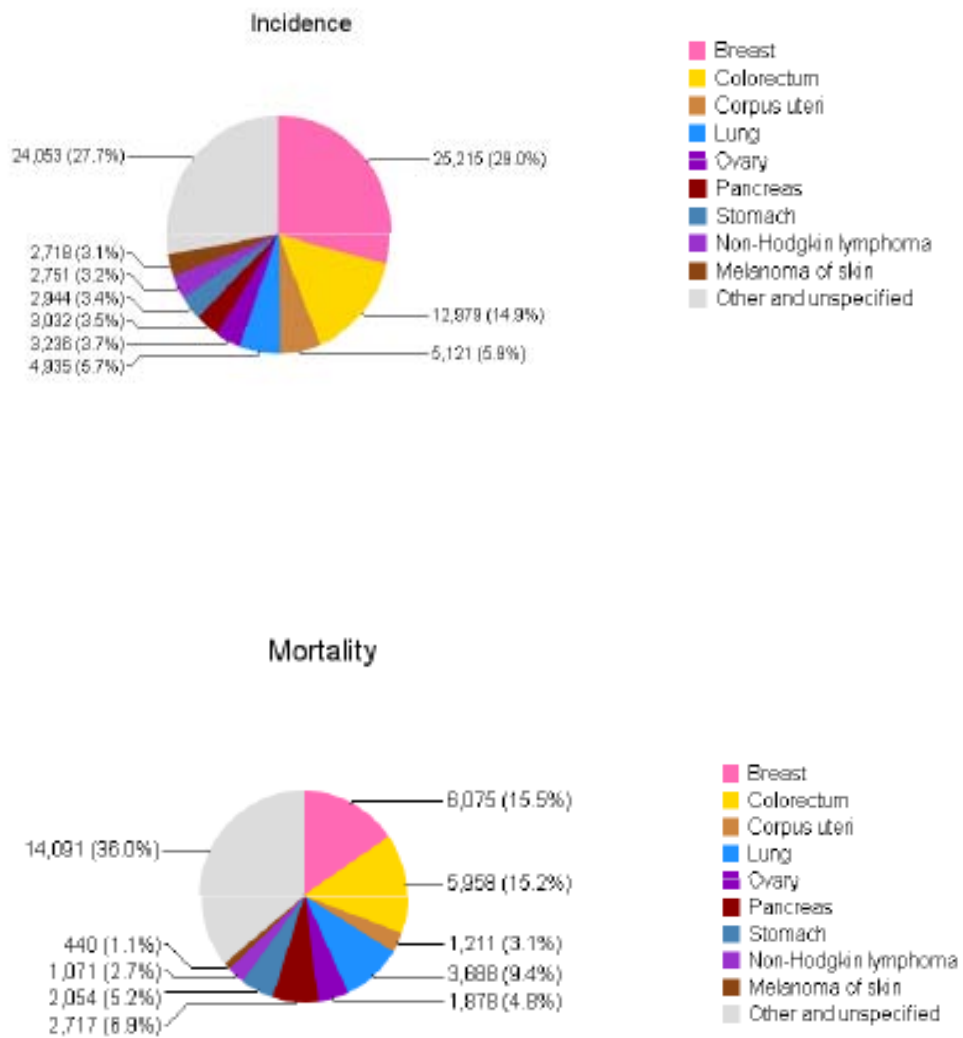
1. La supervivencia por cáncer está mejorando a lo largo del tiempo en todas las regiones europeas.
2. El mayor incremento en supervivencia se está observando en pacientes con cáncer de próstata, linfoma no Hodgkin y cáncer de recto.
3. La supervivencia en los países del este de Europa es generalmente baja e inferior a la media del resto de países, sobre todo para los tumores de intermedio y buen pronóstico.
4. La supervivencia por cáncer disminuye con la edad.

De forma más específica para cáncer de mama, la supervivencia a cinco años en Europa fue del 81,8%, que en España alcanzó el 82,8%, observándose el mejor porcentaje de supervivencia entre los 45 y los 54 años. Asimismo, la supervivencia a cinco años por cáncer de mama se ha incrementado en los últimos años, como ocurre en la mayor parte de las patologías oncológicas, pasando del 78,4% en el periodo 1999-2001 al 82,4% en el periodo 2005-2007.

En España no disponemos de un sistema nacional de registro de tumores para conocer las cifras exactas de esta enfermedad. El estudio GLOBOCAN 2012 fue un proyecto que tenía como objetivo proporcionar estimaciones contemporáneas de la incidencia, mortalidad y prevalencia de los principales tipos de cáncer, por separado para cada sexo, en 184 países del mundo [4]. Según este estudio, en el año 2012 se diagnosticaron en España 25.215 casos de cáncer de mama, lo que supone un 29% del total de los tumores diagnosticados en mujeres. Asimismo, fallecieron más de 6.000 pacientes por esta enfermedad, lo que representa un 15,5% del total de las muertes por cáncer. En la **figura 1** se muestran los datos en España de mortalidad e incidencia de los diferentes tipos de cáncer en mujeres según el estudio GLOBOCAN 2012.

Figura 1

Incidencia y mortalidad por cáncer en España en mujeres
(estudio GLOBOCAN 2012)



1.2. Factores de riesgo

De entre los tumores de mama, alrededor de un 90-95% son casos esporádicos, y solamente un 5-10% de los casos tienen un componente hereditario asociado. A pesar de que la causa de los tumores de mama esporádicos es desconocida, se han descrito múltiples factores de riesgo que favorecen su desarrollo, entre los que podemos encontrar la edad y el sexo, los factores reproductivos, las hormonas sexuales endógenas y exógenas, la susceptibilidad genética y los hábitos de vida (dieta, ejercicio físico, obesidad, polución ambiental y radiación ionizante) [5].

1.3. Anatomía patológica

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea desde distintos puntos de vista, entre ellos su clasificación histopatológica. Esta clasificación se basa en los rasgos morfológicos de los tumores, y en la actualidad se utiliza una modificación de la clasificación que la Organización Mundial de la Salud (WHO, del inglés World Health Organization) publicó en el año 2003 [6]. Esta clasificación está bien reconocida y es razonablemente reproducible; destacan fundamentalmente seis grandes grupos de lesiones:

1. Lesiones precursoras (neoplasia lobulillar y carcinoma ductal *in situ* o intraductal).
2. Carcinoma invasivo de tipo no especial.
3. Subtipos especiales de carcinoma invasivo.
4. Situaciones especiales (carcinoma microinvasivo, carcinoma inflamatorio y carcinoma de mama bilateral).
5. Lesiones proliferativas intraductales.
6. Lesiones papilares.

Dentro de las lesiones propiamente malignas podemos encontrar los tumores epiteliales, los tumores mesenquimales, los tumores fibroepiteliales, los tumores de la areola, el linfoma y las metástasis a nivel mamario procedentes de otros tumores. El mayor porcentaje de pacientes en la práctica clínica presenta tumores epiteliales, dentro de los cuales encontramos el carcinoma invasivo de tipo no especial, anteriormente denominado carcinoma ductal infiltrante, y los subtipos especiales de carcinoma invasivo entre los que

destacan el carcinoma lobulillar invasivo, el carcinoma tubular, el carcinoma mucinoso o coloide, el carcinoma con rasgos medulares, el carcinoma cribiforme, el carcinoma con diferenciación apocrina y el carcinoma metaplásico. Además, existen a su vez otros subtipos muy infrecuentes, como son el carcinoma con diferenciación neuroendocrina, el carcinoma de células claras rico en glucógeno y el carcinoma oncocítico, entre otros.

El carcinoma invasivo de tipo no especial, anteriormente denominado carcinoma ductal infiltrante, es el subtipo más frecuente y representa el 70-80% del total de casos diagnosticados. Se origina a nivel de los conductos mamarios y frecuentemente se presenta como una masa palpable no dolorosa, o bien como una alteración en la mamografía. Radiológicamente, no hay ningún elemento que permita distinguirlo del resto de carcinomas invasivos de la mama.

El carcinoma lobulillar infiltrante constituye el segundo tumor de mama invasivo más frecuente, y representa aproximadamente el 5-10% de todos los carcinomas infiltrantes. Se origina a nivel de los lobulillos mamarios y se caracteriza por ser un tumor multifocal y/o multicéntrico, por su tendencia a la bilateralidad y por la dificultad para ser visualizado en las pruebas radiológicas, por lo que es diagnosticado en estadios avanzados con mayor frecuencia que el carcinoma invasivo de tipo no especial. Además, con respecto a estos, presentan con más frecuencia positividad de los receptores hormonales y ausencia de sobreexpresión del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) [7].

1.4. Factores pronósticos clínicos e histopatológicos

A pesar de los avances en el conocimiento de la biología molecular del cáncer de mama, los factores clínicos e histopatológicos siguen siendo en la actualidad una herramienta pronóstica y predictiva de gran valor en la práctica clínica. De hecho, la mayoría de las decisiones terapéuticas se siguen basando en estos criterios. Entre ellos, los más utilizados son los que explicamos a continuación.

1.4.1. Invasión ganglionar axilar

Ha sido clásicamente el factor pronóstico más importante a la hora de determinar la supervivencia global y el riesgo de recaída en una paciente con cáncer de mama. La

afectación ganglionar axilar es indicativa de un peor pronóstico de la enfermedad, y existe una relación directa entre el número total de ganglios afectados y la supervivencia global [8].

1.4.2. Tamaño tumoral

Ha sido considerado durante años el segundo factor pronóstico más relevante después de la afectación axilar, y es un factor independiente del estado ganglionar. Al igual que sucede con la invasión ganglionar, un mayor tamaño tumoral se asocia a un peor pronóstico, así como a una mayor incidencia de afectación ganglionar locorregional [8].

1.4.3. Tipo histológico

No hay diferencia en el pronóstico de los carcinomas invasivos de tipo no especial y la variante clásica de los carcinomas lobulillares infiltrantes [9]. Sin embargo, hay subtipos tumorales que se han asociado de forma consistente a un mejor pronóstico, como son el carcinoma tubular, el carcinoma cribiforme, el carcinoma mucinoso y el carcinoma adenoide quístico [10].

1.4.4. Grado histológico

Es un factor predictor importante de la evolución del cáncer de mama infiltrante y se asocia a otras variables pronósticas bien establecidas [11]. Se establecen tres grados diferentes según el método propuesto por Elston y Ellis en función del pleomorfismo celular, el recuento mitótico y la formación de túbulos; así, los tumores con grado histológico 1 son de bajo grado y de mejor pronóstico, y los tumores con grado histológico 3 se consideran de alto grado y se asocian a un peor pronóstico [12].

1.4.5. Invasión linfovascular tumoral

La presencia de invasión linfovascular tumoral es un factor de peor pronóstico, aunque algunos estudios han publicado resultados discordantes [13, 14]. Este efecto parece ser

independiente del estado ganglionar [15]. Asimismo, la invasión linfovascular se ha asociado a una mayor probabilidad de afectación ganglionar cuando se lleva a cabo la biopsia selectiva del ganglio centinela, que forma parte de la mayoría de los nomogramas diseñados con este objetivo [16].

1.4.6. Receptores hormonales

El estado de los receptores de estrógeno (RE) y progesterona (RP) es, junto al estado del receptor HER2, un factor pronóstico y predictivo fundamental en cáncer de mama. La expresión se determina por inmunohistoquímica, y se consideraba de forma clásica que un tumor era positivo para RE o RP cuando se teñían al menos un 10% de los núcleos de las células tumorales. Sin embargo, recientemente la ASCO ha recomendado considerar positivos para RE o RP aquellos tumores con tinción de tan solo un 1% de los núcleos de las células tumorales [17]. La positividad de los receptores hormonales se asocia a una mejor supervivencia, a tumores bien diferenciados y a una menor frecuencia de metástasis viscerales, y predice también el beneficio del tratamiento hormonal [18-20].

1.4.7. HER2

La amplificación del gen del *HER2* se detecta en alrededor del 15-20% de todas las pacientes afectadas de cáncer de mama. Al igual que los receptores hormonales, el estado del receptor HER2 es un importante factor pronóstico, que se asocia con una mayor agresividad tumoral y un peor pronóstico de la enfermedad, y es además el único factor predictivo del beneficio a terapias anti-HER2 [21]. La determinación del estado del receptor HER2 se realiza también mediante inmunohistoquímica o bien con técnicas de hibridación *in situ* (ISH) cuando la inmunohistoquímica no es concluyente [22].

1.4.8. Índice proliferativo Ki67

Es un antígeno nuclear que se utiliza como marcador de la proliferación celular y que también se determina mediante inmunohistoquímica. No existe un *cut-off* bien definido, aunque en el panel de expertos de Saint Gallen del año 2013 la mayoría de sus integrantes votaron a favor de que un *cut-off* $\geq 20\%$ se considerara un valor de Ki67 alto.

En este mismo congreso se insistió en el problema que supone su baja reproducibilidad, a pesar de que a día de hoy está bien protocolizada su determinación [23, 24]. Además, una alta expresión de Ki67 se ha correlacionado con tumores de alto grado histológico, con ausencia de expresión de los receptores hormonales y con un peor pronóstico de la enfermedad [25].

1.4.9. Edad de la paciente

Es un importante factor pronóstico independiente. Alrededor de un 7% de todos los cánceres de mama se diagnostican en mujeres por debajo de los 40 años, y las neoplasias mamarias suponen hasta el 40% del total de los tumores diagnosticados en este grupo de edad. Varios estudios han objetivado un peor pronóstico en mujeres jóvenes, principalmente en las menores de 35 años. Así, el exceso de mortalidad relativo es de 2,8 en pacientes de entre 20 y 34 años, con respecto a las pacientes de entre 50 y 69 años, y disminuyó progresivamente con el incremento de la edad (1,8 para pacientes de entre 35 y 39 años y 1,2 para aquellas pacientes de entre 40 y 49 años) [26]. Nuevas evidencias justifican este peor pronóstico por la presencia de diferencias en el estroma mamario de las mujeres jóvenes, así como por cambios en la biología de los tumores que en ellas se desarrollan en probable relación con el embarazo, e incluso con la lactancia materna [27].

1.5. Subtipos de cáncer de mama por el perfil de expresión génica

Recientemente, diferentes grupos han desarrollado una nueva clasificación molecular del cáncer de mama no basada en los factores histopatológicos clásicos, sino en el perfil de expresión génica tumoral.

Perou y Sorlie fueron los primeros autores que clasificaron los tumores de mama en función de su perfil génico, y definieron inicialmente cuatro subtipos intrínsecos de cáncer de mama: luminal, *normal-like*, basal y *HER2-enriched* [28]. Para ello analizaron los patrones de expresión génica en 65 muestras quirúrgicas procedentes de 42 pacientes usando *microarrays* de ácido desoxirribonucleico (ADN) que representaban a 8.102

genes humanos. El subtipo luminal se caracterizaba por la alta expresión de genes de las células luminales del tejido mamario normal; el subtipo basal por la elevada expresión de genes característicos de las células basales del tejido mamario normal; el subtipo *HER2-enriched* por la alta expresión del oncogén del *HER2* y por los bajos niveles de expresión del RE; y el subtipo *normal-like* por la elevada expresión de genes de las células basales y adiposas y la baja expresión de genes de las células luminales. Posteriormente, los mismos autores refinaron esta clasificación y para ello analizaron 78 nuevas muestras tumorales, así como tres fibroadenomas y cuatro tejidos mamarios normales. De este nuevo análisis se concluyó que el subtipo luminal podría subclasificarse en varios subgrupos con diferente pronóstico (luminal A, B y C), y que el subtipo *normal-like* podría corresponder a tejido mamario normal [29].

Esta clasificación molecular tiene importancia tanto pronóstica como terapéutica. A nivel pronóstico, los subtipos basal y *HER2-enriched* se han asociado repetidamente a una peor supervivencia, mientras que el subtipo luminal B muestra un pronóstico intermedio, y el subtipo luminal A es el que presenta el mejor pronóstico de todos los subtipos [29, 30]. Sin embargo, debemos remarcar que estos estudios se realizaron antes de la introducción de las terapias anti-HER2, las cuales han modificado de forma radical el pronóstico de la enfermedad HER2-positiva [31].

Una de las principales limitaciones de esta clasificación molecular es la dificultad para utilizar el análisis de expresión génica de forma rutinaria en la práctica clínica habitual. Por este motivo, se han definido diferentes perfiles inmunohistoquímicos subrogados con una buena correlación con estos subtipos moleculares, aunque la concordancia no es perfecta. En la **tabla 1** se encuentran definidos los subtipos moleculares más relevantes mediante inmunohistoquímica [23].

Hay discrepancias en cuanto a cuál es el valor de Ki67 óptimo para diferenciar entre un tumor luminal A y B. Como ya dijimos anteriormente, en el panel de expertos de Saint Gallen del año 2013 la mayoría de sus integrantes votaron a favor de que un *cut-off* $\geq 20\%$ se considerara como un valor de Ki67 alto [23]. Sin embargo, previamente, Cheang y cols. consideraron un valor de Ki67 del 13,25% para distinguir los subtipos luminal A y B [32]. En cuanto al receptor de progesterona, recientemente se ha definido que la expresión del RP por encima del 20% también es de utilidad en la identificación de los tumores luminales A [33].

Tabla 1

Subtipos moleculares de cáncer de mama según el perfil inmunohistoquímico

Subtipo molecular	Perfil inmunohistoquímico
Luminal A	RE y RP positivos HER2-negativo Ki67 bajo
Luminal B/HER2-negativo	RE-positivo HER2-negativo Al menos uno de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> • RP negativo o bajo • Ki67 alto
Luminal B/HER2-positivo	RE-positivo HER2-positivo
HER2- <i>enriched</i>	RE y RP negativos HER2-positivo
Basal	RE y RP negativos HER2-negativo

CK: citoqueratina; EGFR: receptor del factor de crecimiento epidérmico; RE: receptor de estrógeno; RP: receptor de progesterona.

1.6. Evolución natural y manifestaciones clínicas del cáncer de mama

La clínica del cáncer de mama varía tanto en función de su extensión y localización a nivel de la mama como de la presencia o no de metástasis a distancia.

Inicialmente se pensaba que después de un periodo variable de crecimiento dentro del parénquima mamario, el tumor primario invadía los ganglios linfáticos locorreionales para finalmente extenderse por el torrente circulatorio a órganos más distales (teoría de Halsted) [34]. Sin embargo, hoy en día es bien conocido el hecho de que un cáncer de mama puede desarrollar metástasis a distancia sin una afectación previa de los ganglios linfáticos locorreionales (teoría del *spectrum* de Hellman) [35]. Todo esto ha llevado a pensar que el cáncer de mama es una enfermedad sistémica desde el inicio de la misma.

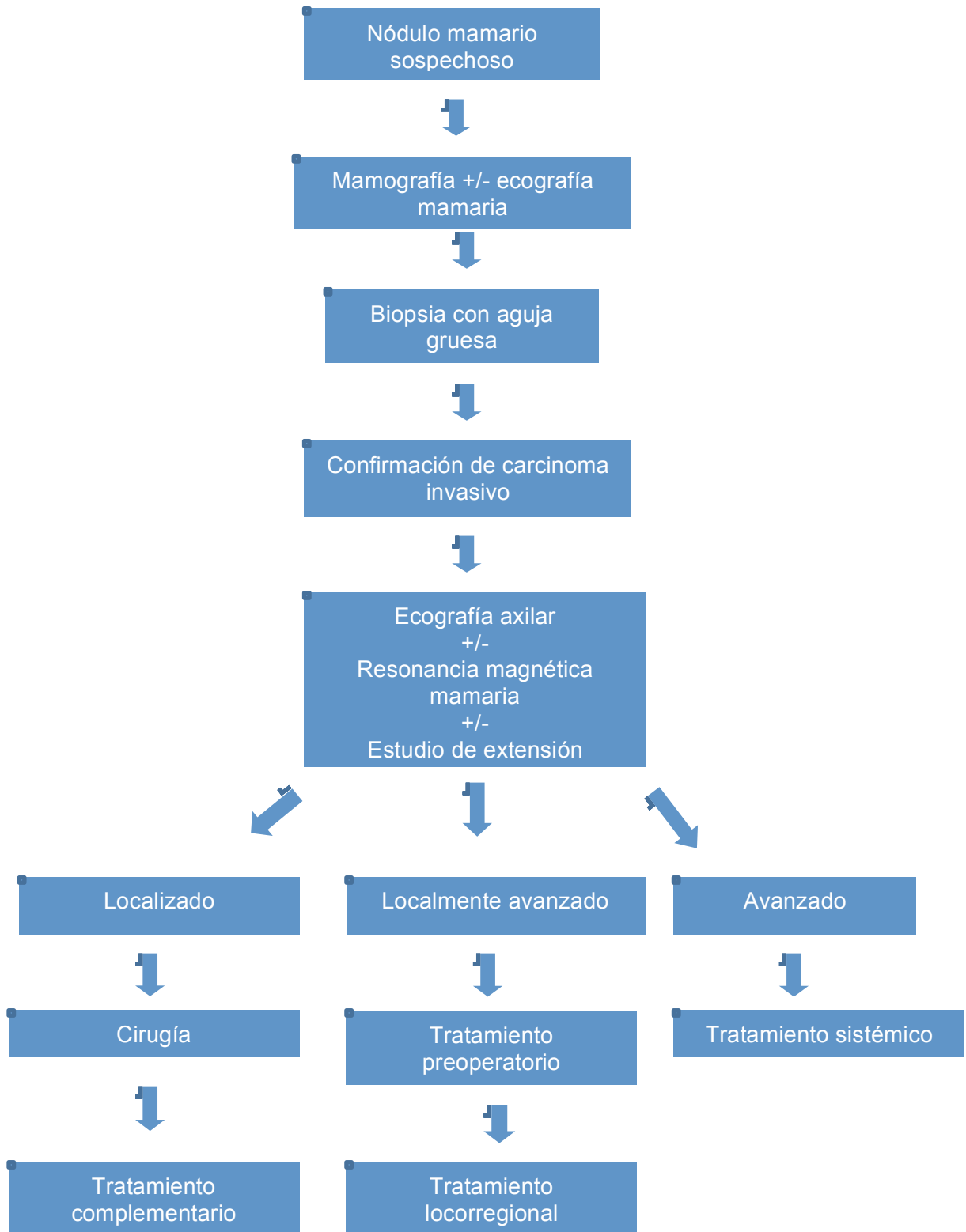
Los cánceres de mama en sus etapas iniciales son generalmente asintomáticos y se detectan mayoritariamente por cambios en la mamografía y/o por la presencia de un tumor palpable en la mama.

Los principales síntomas y signos de la enfermedad a nivel locorregional son:

- **Aparición de un nódulo o masa tumoral.** Es el hallazgo clínico más frecuente e importante. Suelen ser indoloros y aunque la mayoría de los nódulos no son malignos, todos deben ser correctamente evaluados. Un nódulo duro, que crece en el tiempo y que se encuentra adherido a la piel o está fijo, es altamente sospechoso de ser maligno. Por el contrario, un nódulo blando, móvil, que no crece en el tiempo y que no está fijo suele ser benigno. Entre estos últimos destacan los quistes mamarios y los fibroadenomas. En la **figura 2** se describe el algoritmo para el estudio de un nódulo mamario sospechoso.
- **Palpación de un ganglio axilar.** En ocasiones es el primer síntoma, aunque la exploración mamaria sea estrictamente normal. Este hallazgo se debe tomar con cautela puesto que todas las personas tienen de forma fisiológica ganglios en la axila, e incluso es fácil poder confundir una lesión benigna no ganglionar con un ganglio a este nivel. No obstante, existe la posibilidad de que un cáncer de mama comience exclusivamente en forma de una adenopatía axilar sin evidenciarse el tumor primario a nivel mamario.
- **Secreción por el pezón o telorragia.** Es importante saber si ocurre a través de una o ambas mamas, si es uniorifical o pluriorifical, así como las características del líquido. Se debe sospechar un cáncer de mama cuando la secreción sea unilateral, uniorifical y de aspecto sanguinolento. En estas pacientes, el estudio consiste en tomar una citología de la secreción y en ocasiones realizar también una galactografía, junto con el estudio radiológico habitual con mamografía, ecografía mamaria y/o resonancia magnética mamaria.
- **Inversión o retracción del pezón.** A veces puede ser una variante de la normalidad, aunque en las pacientes que inicialmente tenían el pezón normal y posteriormente se retrae, puede ser el primer signo de un cáncer de mama y siempre debe ser evaluado. La presencia de un eccema en el pezón debe hacernos sospechar la posibilidad de una enfermedad de Paget, que es una variante especial de carcinoma intraductal con extensión a través del pezón.

Figura 2

Algoritmo para el estudio de un nódulo mamario sospechoso



- **Cambios en la piel.** La presencia de piel de naranja, retracción de la piel u hoyuelos, signos inflamatorios y/o ulceración siempre nos debe alertar de la existencia de un proceso patológico a nivel mamario. Ante estos hallazgos deberá hacerse un diagnóstico diferencial con enfermedades cutáneas de la mama o una mastitis. En este punto debemos mencionar un subtipo poco frecuente pero muy agresivo de cáncer de mama que se denomina carcinoma inflamatorio, el cual se caracteriza por la afectación difusa de la piel de la mama con la aparición de signos inflamatorios, principalmente enrojecimiento, y que abarcan al menos dos tercios de toda la extensión de la mama.
- **Dolor en la mama o mastodinia.** Se define como la sensación de pinchazo, tensión o incluso dolor franco. Es un síntoma poco frecuente en las pacientes diagnosticadas de un cáncer de mama, excepto en casos avanzados, y siempre debe diferenciarse del dolor mamario producido por otras causas, como por ejemplo los ciclos menstruales.

El cáncer de mama puede diseminarse en su evolución. Al igual que ocurre en tumores de otras localizaciones, el cáncer de mama tiene predilección por diferentes órganos. Además, está bien establecido que cada subtipo de cáncer de mama puede afectar con mayor o menor frecuencia a una determinada localización [18]. Así, en los tumores con expresión de receptores hormonales, las metástasis óseas son las más frecuentes, mientras que los tumores HER2-positivos tienen una mayor predilección por el sistema nervioso central, el hígado y el pulmón, y los tumores triple-negativos por el sistema nervioso central, el pulmón y los ganglios linfáticos. Los principales síntomas y signos de la enfermedad a nivel sistémico dependen del órgano afectado:

- **Hueso.** Es la localización metastásica más frecuente, y el dolor es el síntoma principal. Un dolor localizado a nivel óseo, que aumenta progresivamente en el tiempo y que no cede con medicación analgésica deberá ser evaluado de forma estricta. En ocasiones, los huesos afectados por metástasis se pueden romper de forma espontánea, produciéndose la llamada fractura patológica. La afectación metastásica del hueso se estudia habitualmente mediante radiografías simples y gammagrafía ósea.
- **Hígado.** La afectación metastásica hepática suele pasar desapercibida, y lo más normal es que curse de forma asintomática o en forma de una alteración analítica. A veces, cuando la enfermedad hepática es muy extensa, puede aparecer dolor abdominal,

prurito y/o ictericia. La afectación metastásica del hígado se evalúa normalmente por medio de ecografía, tomografía axial computarizada y/o resonancia magnética abdominal.

- **Pulmón y/o pleura.** El síntoma más habitual suele ser la tos, que habitualmente no es productiva. Otros síntomas son el dolor torácico, de características pleuríticas, la disnea o la aparición de hemoptisis. La tomografía axial computarizada es la prueba de elección para estudiar la afectación metastásica a nivel pleuropulmonar.

- **Sistema nervioso central.** El síntoma más característico es la cefalea, y puede ser tanto por afectación cerebral como meníngea. Dado que este síntoma es frecuente en pacientes sin cáncer, hay unos síntomas de alarma asociados que siempre se deben tener en cuenta, como son que el dolor no ceda con medicación analgésica, que se acompañe de náuseas o vómitos, que se mantenga y aumente progresivamente en el tiempo y/o que despierte a la paciente por la noche. Otras manifestaciones clínicas serían la aparición de una focalidad neurológica, bien sensitiva o motora, o crisis epilépticas. La tomografía axial computarizada, junto con la resonancia magnética craneal, constituyen las exploraciones recomendadas para evaluar la presencia de metástasis en el sistema nervioso central.

1.7. Diagnóstico del cáncer de mama

Gracias a la implementación de los programas de *screening* poblacional y a la mayor concienciación por parte de la población femenina de la importancia de la autoexploración mamaria, el cáncer de mama se diagnostica mayoritariamente en etapas iniciales [1].

Es fundamental realizar en primer lugar una exploración física minuciosa, tanto de la mama como de los ganglios linfáticos locorreionales en búsqueda de nódulos sospechosos, asimetrías, alteraciones cutáneas o del complejo areola-pezones y ganglios patológicos.

En cuanto a las exploraciones complementarias, la primera prueba que habrá que realizar será una mamografía bilateral, que deberá ser comparada siempre que sea posible con las mamografías previas. Los hallazgos patológicos más frecuentes son la aparición de un nódulo, una asimetría del tejido mamario y la presencia de microcalcificaciones con

características de sospecha (pequeñas, irregulares y en forma de racimo). Además, en el informe de la mamografía siempre tiene que especificarse el BI-RADS (del inglés, *Breast Imaging Reporting and Data System*) que clasifica los hallazgos mamográficos de una forma estandarizada [36]. En la **tabla 2** quedan definidas las categorías del sistema BI-RADS. Según el resultado de la mamografía y los hallazgos en la exploración física se podrá realizar adicionalmente una ecografía mamaria y/o una resonancia magnética mamaria. En cuanto al uso de la resonancia magnética mamaria, su objetivo fundamental es descartar la existencia de tumores en la mama contralateral, así como la presencia de multifocalidad/multicentricidad. Sin embargo, el uso de esta prueba diagnóstica no ha disminuido la tasa de reintervenciones quirúrgicas por márgenes afectados en las pacientes sometidas a una cirugía conservadora [37].

Si en las pruebas de imagen existe la sospecha de un tumor maligno de mama, se deberá llevar a cabo una biopsia que preferiblemente se realizará con aguja gruesa, para poder confirmar la naturaleza maligna del tumor y determinar todos los factores predictivos y pronósticos mencionados previamente teniendo en cuenta las recomendaciones del Colegio Americano de Patólogos (CAP, del inglés College of American Pathologists) [38].

Tras la confirmación del diagnóstico de cáncer de mama deberá valorarse si los ganglios linfáticos axilares están afectados, y en este caso la prueba recomendada es una ecografía axilar. Si existe sospecha de afectación ganglionar (ganglio con cortical engrosada, pérdida de su forma elíptica normal y/o pérdida del hilio graso central) se deberá realizar una punción con aguja fina para confirmar esta sospecha. En el caso de que la punción sea negativa, siempre hay que confirmar que la muestra sea representativa.

Finalmente, se llevará a cabo un estudio de extensión para descartar la presencia de metástasis a distancia, que será más o menos complejo según la extensión de la enfermedad a nivel locorregional. Las guías de la NCCN (del inglés, National Comprehensive Cancer Network) recomiendan realizar una gammagrafía ósea si la paciente presentara un dolor óseo localizado y/o hubiera elevación de los niveles de fosfatasa alcalina, y una tomografía axial computarizada torácica y/o abdominopélvica si hubiera síntomas torácicos y/o abdominales y/o una alteración de las pruebas de función hepática. En el caso de tumores localmente avanzados, estas guías recomiendan realizar

siempre una gammagrafía ósea y una tomografía axial computarizada torácica y abdominopélvica, y de forma opcional, una tomografía por emisión de positrones (PET) [39].

Tabla 2
Definición de los hallazgos mamográficos según el sistema BI-RADS

Categorías	Definición
0	Se necesita una evaluación radiológica adicional porque no es posible confirmar ni descartar malignidad
I	Mamografía negativa para malignidad. Se recomienda seguimiento a intervalos de tiempo normales
II	Mamografía negativa para malignidad, pero con hallazgos benignos. Se recomienda seguimiento a intervalos de tiempo normales
III	Mamografía con hallazgos probablemente benignos. Requiere nuevo control a los seis meses
IV	Mamografía con resultado dudoso de malignidad. Requiere una confirmación histopatológica
V	Mamografía con alta sospecha de malignidad. Requiere una confirmación histopatológica
VI	Malignidad comprobada mediante biopsia

1.8. Estadificación del cáncer de mama

El cáncer de mama se divide en cuatro estadios con importantes implicaciones pronósticas y terapéuticas. El sistema de estadificación TNM es el más utilizado en la actualidad. Se basa en el tamaño del tumor (T), la afectación o no de los ganglios linfáticos regionales (N) y la presencia o no de metástasis a distancia (M). A continuación se detalla el sistema TNM actual del cáncer de mama [40]:

Tumor primario (T)

Tx: tumor primario que no puede ser demostrado por técnicas radiológicas.

T0: no evidencia de tumor primario.

Tis: carcinoma *in situ*.

T1: tumor ≤ 2 cm de diámetro máximo

T1mi: microinvasión $\leq 0,1$ cm de diámetro máximo.

T1a: tumor $> 0,1$ cm pero $\leq 0,5$ cm de diámetro máximo.

T1b: tumor $> 0,5$ cm pero ≤ 1 cm de diámetro máximo.

T1c: tumor > 1 cm pero ≤ 2 cm de diámetro máximo.

T2: tumor > 2 cm pero ≤ 5 cm de diámetro máximo.

T3: tumor > 5 cm de diámetro máximo.

T4: tumor de cualquier tamaño con:

T4a: extensión a pared torácica, sin incluir músculo pectoral.

T4b: edema (incluyendo piel de naranja), ulceración de la piel o nódulos satélites cutáneos confirmados en la misma mama.

T4c: ambos, T4a + T4b.

T4d: carcinoma inflamatorio.

Afectación ganglionar regional (N)

Nx: los ganglios regionales no pueden ser o no han sido evaluados.

N0: no hay afectación ganglionar.

N1: metástasis en los ganglios axilares ipsilaterales móviles.

N2:

N2a: metástasis en los ganglios axilares ipsilaterales fijos o empastados.

N2b: metástasis clínicamente aparente en los ganglios ipsilaterales de la cadena mamaria interna en ausencia de ganglios axilares clínicamente evidentes.

N3:

N3a: metástasis en los ganglios infraclaviculares ipsilaterales.

N3b: metástasis clínicamente aparente en los ganglios ipsilaterales de la cadena mamaria interna junto con ganglios axilares clínicamente evidentes.

N3c: metástasis en los ganglios supraclaviculares ipsilaterales.

Metástasis a distancia (M)

Mx: no pueden ser evaluadas.

M0: ausencia de metástasis a distancia.

M1: presencia de metástasis a distancia.

En función del TNM se procede a la estadificación del cáncer de mama en cuatro estadios. Los estadios 0-I-II corresponden al cáncer de mama localizado; el estadio III, al cáncer de mama localmente avanzado, y el estadio IV, al cáncer de mama metastásico.

Estadio 0

Tis N0 M0

Estadio I

T1 N0 M0 (incluye T1mi)

Estadio IIA

T0 N1 M0

T1 N1 M0 (incluye T1mi)

T2 N0 M0

Estadio IIB

T2 N1 M0

T3 N0 M0

Estadio IIIA

T0 N2 M0

T1 N2 M0 (incluye T1mi)

T2 N2 M0

T3 N1 M0

T3 N2 M0

Estadio IIIB

T4 N0 M0

T4 N1 M0

T4 N2 M0

Estadio IIIC

Cualquier T N3 M0

Estadio IV

Cualquier T cualquier N M1

1.9. *Screening* del cáncer de mama

Como dijimos anteriormente, la instauración de los programas de cribado o *screening* poblacional ha ayudado a reducir la mortalidad por cáncer de mama, gracias a que permiten diagnosticar la enfermedad en estadios más iniciales [1].

Las recomendaciones actuales de la U.S. Preventive Services Task Force sobre el cribado del cáncer de mama son [41]:

1. Realizar una mamografía cada dos años a las mujeres de entre 50 y 74 años.
2. No está bien establecido el beneficio de aplicar el programa de *screening* a mujeres de más de 75 años.
3. No se deben hacer mamografías para el cribado del cáncer de mama a las mujeres entre 40 y 49 años de edad. Su realización en este grupo de edad deberá valorarse de manera individualizada.

4. La evidencia actual es insuficiente para recomendar otras exploraciones adicionales a la mamografía en mujeres menores de 40 años.

Las recomendaciones para el grupo de mujeres entre 40 y 49 años, así como la frecuencia con la que se debe realizar la mamografía, han generado una importante controversia. Por ello, puede ocurrir que haya modificaciones a estas recomendaciones generales en las distintas áreas geográficas, aunque la alternativa más frecuentemente utilizada es la realización de una mamografía anual a partir de los 40 años.

Por otro lado, varios estudios parecen apoyar la realización alterna de una mamografía y una resonancia magnética mamaria cada seis meses en las mujeres que tienen una mutación identificada en *BRCA1* o *BRCA2*, dado que reduce el número de casos de cáncer de mama diagnosticados en estadios avanzados [42]. Sin embargo, el uso de la resonancia magnética mamaria fuera de este grupo de pacientes no está recomendado.

2. Tratamiento del cáncer de mama invasivo

La cirugía, la radioterapia, el tratamiento hormonal, la quimioterapia y más recientemente los tratamientos dirigidos contra dianas moleculares, específicamente contra el receptor HER2, constituyen los pilares básicos del tratamiento del cáncer de mama en el momento actual. Dichas terapias se aplican en función de distintas variables como son la estadificación tumoral y las características histopatológicas del tumor.

2.1. Cáncer de mama localizado

2.1.1. Tratamiento quirúrgico

La cirugía es el tratamiento de elección inicial en el cáncer de mama localizado. Existen dos tipos de cirugía: la cirugía conservadora de la mama (tumorectomía o cuadrantectomía, generalmente) y la cirugía radical de la mama o mastectomía. El objetivo en ambos casos es conseguir la extirpación completa del tumor con márgenes quirúrgicos negativos.

La cirugía conservadora consiste en la extirpación de una parte de la mama y es el tratamiento quirúrgico de elección, por lo que se realizará siempre que no esté contraindicada. Este hecho se justifica tomando como base los resultados de diferentes estudios aleatorizados, como el B-06 del National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP). Estos estudios han demostrado que las pacientes sometidas a una cirugía conservadora con márgenes negativos seguida de radioterapia presentan la misma supervivencia que las pacientes a las que se les practica una mastectomía, aunque las recidivas locales son más frecuentes en las pacientes tratadas con cirugía conservadora [43]. Por todo esto, es muy importante conocer las contraindicaciones absolutas para la realización de una cirugía conservadora, entre las que se encuentran:

1. Tumor multicéntrico (afectación de distintos cuadrantes).
2. Presencia de microcalcificaciones difusas.
3. Imposibilidad de conseguir un margen quirúrgico negativo.
4. Antecedente de radioterapia sobre la mama o que haya contraindicación para administrarla.
5. Carcinoma inflamatorio.

En ocasiones, cuando el tumor no es palpable, se puede llevar a cabo la cirugía conservadora guiada por ecografía o colocando un marcaje, principalmente un arpón, que permitirá localizarlo durante la intervención quirúrgica [44]. Asimismo, se han desarrollado otras técnicas, como la técnica ROLL (del inglés, *Radioguided Occult Lesion Localisation*), que permite detectar el tumor mediante la inyección intralesional de un radiotrazador [partículas de albúmina humana marcadas con tecnecio 99 metaestable (^{99m}Tc)] [45]. De la misma forma, se han propuesto varias técnicas para realizar en la misma intervención la cirugía radioguiada de la lesión no palpable y la biopsia del ganglio centinela, como la técnica SNOLL (del inglés, *Sentinel Node and Occult Lesion Localisation*) [46].

La mastectomía, por el contrario, implica la extirpación de toda la glándula mamaria y del complejo areola-pezón. Se denomina mastectomía radical cuando la mastectomía se acompaña de la extirpación de los ganglios linfáticos axilares, y mastectomía simple si no se realiza la disección ganglionar axilar. En la actualidad existen nuevas técnicas quirúrgicas que pueden ayudar a mejorar el resultado estético, como es la mastectomía ahorradora de piel con o sin conservación del complejo areola-pezón. En la mastectomía ahorradora de piel se lleva a cabo la extirpación de toda la glándula mamaria limitándose al máximo la extracción de piel, lo que facilita la posterior reconstrucción de la mama de la paciente, sobre todo si se conserva el complejo areola-pezón, y favorece la obtención de un mejor resultado estético [47]. En la actualidad hay indicaciones bien establecidas para esta técnica, como son la mastectomía profiláctica en pacientes sanas que presentan una mutación en *BRCA1* o *BRCA2*, y el tratamiento de carcinomas de mama, *in situ* o invasivos, sin afectación del complejo areola-pezón [48]; de ahí que durante el acto quirúrgico se aconseje en estas pacientes realizar una biopsia por congelación del tejido retroareolar para confirmar la ausencia de infiltración del mismo.

Conjuntamente con la cirugía de la mama debe hacerse una valoración quirúrgica del estado ganglionar axilar. Existen dos tipos de técnicas principalmente: la biopsia selectiva del ganglio centinela y la disección ganglionar o linfadenectomía axilar. La biopsia selectiva del ganglio centinela se basa en el principio de que un tumor primario drena a través una cadena ganglionar ascendente que surge de uno o varios ganglios iniciales (ganglios centinelas). Para ello, se inyecta un contraste a nivel del tumor o alrededor del pezón, de forma ambulatoria, y antes de la intervención quirúrgica, lo que permite localizar el ganglio centinela en más del 95% de las pacientes. El radiotrazador más frecuentemente utilizado es un nanocoloide (sulfuro coloidal) marcado con ^{99m}Tc.

Además, en el caso de la cirugía del cáncer mamario se puede usar también un tinte azul intraoperatoriamente; el más utilizado es el azul de isosulfán. El tinte azul es captado por los canales linfáticos y permite identificar con mayor facilidad y precisión el ganglio centinela [49]. En el estudio B-32 del NSABP se distribuyó de forma aleatoria a 5.611 pacientes con axila clínicamente negativa para realizarles la biopsia selectiva del ganglio centinela seguida de linfadenectomía axilar, o la biopsia selectiva del ganglio centinela seguida de disección ganglionar axilar solamente si el ganglio centinela era positivo [50]. No se observaron diferencias ni en supervivencia ni en control locorregional, con una excelente tasa de detección del ganglio centinela (97,2%) y un bajo porcentaje de falsos negativos (9,8%). Por lo tanto, esta técnica es la recomendada cuando no hay evidencia clínica ni radiológica de afectación ganglionar axilar y preferentemente en tumores con un tamaño inferior a 5 cm, aunque las indicaciones han ido incrementándose en los últimos años; entre ellas aparecen [51]:

1. Tumores T1/T2.
2. Tumores multicéntricos.
3. Carcinomas *in situ* tratados con mastectomía.
4. Cirugía mamaria y/o axilar previa.
5. Tras tratamiento neoadyuvante.

Por contra, hay otras situaciones donde sigue sin haber suficiente evidencia para realizar una biopsia selectiva del ganglio centinela, como son [51]:

1. Pacientes embarazadas.
2. Tumores T3/T4.
3. Carcinomas *in situ* tratados con cirugía conservadora.

Hasta hace relativamente poco tiempo, en caso de que el ganglio centinela fuera positivo, se debía proceder a la realización de una linfadenectomía axilar. Sin embargo, recientemente han aparecido varios estudios que van en contra de esta teoría, entre los que destaca el Z011 del American College of Surgeons Oncology Group (ACOSOG) [52]. En este estudio de no inferioridad, 891 pacientes con tumores de mama T1/T2 sometidas a cirugía conservadora y con afectación de uno o dos ganglios centinelas determinada mediante hematoxilina-eosina, fueron asignadas aleatoriamente a realizarse o no una linfadenectomía axilar. Tras la cirugía, todas las pacientes recibieron radioterapia y tratamiento sistémico. No hubo diferencias ni en la supervivencia global, el objetivo

primario del estudio ni en la tasa de recurrencia locorregional. En la misma dirección también hay datos para omitir la disección axilar en pacientes sometidas a una mastectomía con afectación micrometastásica del ganglio centinela, aunque la evidencia es más limitada, por lo que es un procedimiento que no se recomienda en las últimas guías de la ASCO, mencionadas anteriormente [51, 53].

La disección ganglionar o linfadenectomía axilar consiste en la extirpación de los ganglios linfáticos axilares, considerándose que la extracción de al menos diez ganglios linfáticos define una linfadenectomía óptima [54, 55]. La disección ganglionar se lleva a cabo habitualmente de los niveles I y II de Berg. Estos niveles quedan definidos en función de la relación espacial de los ganglios axilares con el músculo pectoral menor.

Las indicaciones actuales para la realización de una linfadenectomía axilar comprenden:

1. Tumores T3/T4.
2. Afectación ganglionar axilar confirmada al momento del diagnóstico.
3. No detección del ganglio centinela.
4. Ganglios clínicamente sospechosos detectados durante la cirugía.
5. Pacientes embarazadas.

El hecho de realizar una correcta evaluación axilar y conocer exhaustivamente las indicaciones de la biopsia selectiva del ganglio centinela ha sido fundamental a la hora de evitar las múltiples complicaciones asociadas a la linfadenectomía axilar, entre las que destacan el desarrollo de un linfedema, la limitación de la movilidad y las alteraciones de la sensibilidad [56].

2.1.2. Tratamiento adyuvante

2.1.2.1. Generalidades

La quimioterapia, el tratamiento hormonal, la radioterapia y más recientemente los tratamientos dirigidos contra dianas moleculares, principalmente trastuzumab, constituyen el arsenal de tratamiento complementario del cáncer de mama. El objetivo de todas estas maniobras es evitar la recurrencia en pacientes intervenidas quirúrgicamente de un cáncer de mama.

El riesgo de recaída viene condicionado por diferentes factores pronósticos, tanto por los relacionados con la extensión del tumor (clasificación TNM) como por las características biológicas del mismo.

Los métodos utilizados para la estimación del riesgo de recurrencia han ido evolucionando a lo largo de los últimos años y esto se muestra de una forma evidente en las recomendaciones bianuales que se extraen del panel de expertos de Saint Gallen. En el año 1998, antes del uso de las terapias anti-HER2 y de la determinación del estado del receptor HER2, se definieron por primera vez una serie de criterios clínicos e histopatológicos que clasificaban a los pacientes en bajo riesgo si cumplían las siguientes características [57]:

1. Ganglios negativos.
2. Tamaño menor o igual a 2 cm.
3. Grado histológico 1.
4. Receptores hormonales positivos.
5. Edad mayor o igual a 35 años.

Junto con estos criterios se ha utilizado clásicamente el programa informático Adjuvant! Online, que determina el riesgo de recaída y de mortalidad fundamentándose en varios factores clínicos (edad, estado menopáusico y comorbilidades) y patológicos (tamaño, grado histológico, estado ganglionar y estado de receptores hormonales) de la paciente, y calculando a su vez el beneficio en términos de recaída y mortalidad con diferentes maniobras terapéuticas, basándose para ello en los datos del metaanálisis del Early Breast Cancer Trialist's Collaborative Group (EBCTCG) publicado en el año 1998 [58, 59].

Sin embargo, tanto los criterios clásicos de Saint Gallen como el programa Adjuvant! Online han ido cayendo progresivamente en desuso como consecuencia de los avances en la biología molecular del cáncer de mama. Este conocimiento ha posicionado a la biología de cada tumor como un factor fundamental a la hora de poder predecir la recurrencia en cada paciente, más allá de los criterios clínicos e histopatológicos clásicos. Así, además del impacto pronóstico de la clasificación molecular del cáncer de mama que indicamos anteriormente, se ha introducido recientemente en la práctica clínica el uso de plataformas génicas que han permitido identificar agrupaciones de genes que nos ayudan a definir el pronóstico de cada cáncer de mama. Existen en la actualidad diferentes

plataformas comercializadas, todas ellas validadas de forma retrospectiva. De entre ellas destacaríamos MammaPrint® y Oncotype®.

Por un lado, MammaPrint® utiliza la tecnología de *microarray* para analizar la expresión de setenta genes en el tejido tumoral. En series retrospectivas se ha analizado esta plataforma como herramienta pronóstica así como predictiva del beneficio de la quimioterapia en pacientes con cáncer de mama operable sin afectación ganglionar axilar o con afectación ganglionar de hasta tres ganglios [60, 61]. MammaPrint® divide a las pacientes en dos grupos de riesgo, alto y bajo, que se asocian a diferente pronóstico, y solamente se observa un beneficio de la quimioterapia en pacientes de alto riesgo. El estudio internacional y multicéntrico MINDACT, actualmente en fase de seguimiento tras completar su reclutamiento, ha incluido a más de 6.000 pacientes con tumores localizados con ganglios negativos o afectación de hasta tres ganglios axilares [62]. En el estudio, el tratamiento adyuvante se aplicó en función de criterios clínicos e histopatológicos (Adjuvant! Online) y de criterios genómicos (MammaPrint®). Las pacientes de bajo riesgo por ambos criterios recibieron tratamiento hormonal; las pacientes de alto riesgo por ambos criterios recibieron tratamiento de quimioterapia; y las pacientes con criterios con resultados discordantes fueron asignadas de forma aleatoria a usar los criterios clínicos e histopatológicos o genómicos para establecer el riesgo y determinar el uso de quimioterapia.

Por otra parte, Oncotype DX® es una plataforma basada en la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) que analiza la expresión de veintinueve genes en el tejido tumoral. La validación del Oncotype DX® como herramienta pronóstica se llevó a cabo en el estudio B-14 del NSABP, y su validación como herramienta predictiva del beneficio de la quimioterapia se evaluó en el estudio B-20 del NSABP [63, 64]. En ambos estudios se incluyeron exclusivamente pacientes con tumores hormonosensibles sin afectación ganglionar. Más recientemente también se ha validado esta plataforma en el estudio 8814 del Southwest Oncology Group (SWOG) como herramienta predictiva del beneficio de la quimioterapia en pacientes posmenopáusicas con tumores hormonosensibles con afectación ganglionar axilar [65]. A diferencia del MammaPrint®, esta plataforma agrupa a las pacientes en tres categorías, alto, intermedio y bajo riesgo, mediante una variable continua denominada *recurrence score* (RS). Los estudios TAILORx, en pacientes con ganglios negativos, y RxPONDER, en pacientes con afectación ganglionar axilar de hasta tres ganglios, están evaluando de forma prospectiva el papel de Oncotype DX® en la elección del tratamiento adyuvante [66, 67].

En resumen, de los criterios clínicos e histopatológicos clásicos recogidos en el panel de expertos de Saint Gallen del año 1998, hemos pasado a una estimación del riesgo totalmente diferente basada tanto en la clasificación molecular del cáncer de mama como en el uso de plataformas génicas [23]. En la **tabla 3** se recogen las conclusiones más relevantes del panel de expertos de Saint Gallen del año 2013.

Tabla 3
Recomendaciones de tratamiento sistémico adyuvante en pacientes
con cáncer de mama. Saint Gallen 2013

Subtipo tumoral	Tipo de tratamiento	Notas
Luminal A	Endocrino	Debe valorarse añadir tratamiento citotóxico si: A. Plataforma génica de alto riesgo B. Grado histológico 3 C. ≥ 4 ganglios La edad < 35 años <i>per se</i> no es un criterio para añadir tratamiento citotóxico
Luminal B/HER2-negativo	Endocrino +/- citotóxico	
Luminal B/HER2-positivo	Endocrino + citotóxico + terapia anti-HER2	No hay datos para omitir el tratamiento citotóxico en este grupo
HER2-positivo no luminal	Citotóxico + terapia anti-HER2	Terapia anti-HER2 en tumores al menos T1b y/o con afectación ganglionar
Triple-negativo	Citotóxico	
Tubular, mucinoso y cribiforme	Endocrino	

2.1.2.2. Quimioterapia

Los diferentes metaanálisis del EBCTCG han demostrado que la administración de quimioterapia adyuvante se asocia a una mejoría en la supervivencia global independientemente de la edad, la afectación ganglionar y el estado de los receptores hormonales [59, 68]. De los estudios y metaanálisis publicados con quimioterapia en el tratamiento adyuvante del cáncer de mama se pueden establecer las siguientes conclusiones:

1. La administración de poliquimioterapia es superior a la monoterapia [59].
2. La superioridad de los regímenes con antraciclinas sobre ciclofosfamida, metrotexato y 5-fluoruracilo (CMF) [68].
3. No existen estudios que comparen directamente las dos antraciclinas más utilizadas (epirrubicina y doxorubicina). Sin embargo, no parecen existir diferencias en función de la antraciclina utilizada [68].
4. La administración de un régimen basado en cuatro ciclos de antraciclinas como adriamicina y ciclofosfamida (AC) es equivalente a la pauta con seis ciclos de CMF en términos de supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad en pacientes sin afectación ganglionar y con tumores RE-negativo [69].
5. La administración de un régimen basado en seis ciclos de antraciclinas como 5-fluoruracilo, adriamicina/epirrubicina y ciclofosfamida (FAC/FEC) ha demostrado ser superior al tratamiento con seis ciclos de CMF en términos de supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad en pacientes con y sin afectación ganglionar [70, 71].
6. La administración de un régimen basado en cuatro ciclos de taxanos como docetaxel y ciclofosfamida (TC) es superior a la pauta con cuatro ciclos de AC en términos de supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad en pacientes con cáncer de mama estadios I-III [72, 73].
7. No está establecida la duración óptima del tratamiento con antraciclinas, y aunque la administración de seis ciclos de FEC es superior a tres ciclos del mismo tratamiento, un estudio más reciente ha demostrado equivalencia entre administrar cuatro y seis ciclos de quimioterapia basada en AC [74, 75].
8. En cuanto a la dosis de antraciclinas, la dosis óptima de adriamicina es de 60 mg/m² según los resultados del estudio 9344 del Cancer and Leukemia Group B (CALGB), mientras que la administración de FEC con dosis de 100 mg/m² de epirrubicina es superior a la administración de 50 mg/m² de epirrubicina [76, 77].
9. Existe poca evidencia sobre el beneficio de la quimioterapia en pacientes mayores de 70 años, por lo que habría que individualizar su administración en pacientes por encima de esta edad [59].
10. La adición de taxanos (paclitaxel y docetaxel) en pacientes con afectación ganglionar axilar, tanto de manera secuencial como concomitante, ha demostrado un aumento en la supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global con respecto al tratamiento con antraciclinas. En un metaanálisis publicado por De Laurentiis y cols. se confirmó que este beneficio era independiente del taxano utilizado, del estado del RE, de la edad de la paciente y de la carga de afectación ganglionar [78]. Asimismo, en pacientes con ganglios

negativos de alto riesgo, dos estudios también han mostrado que la administración de antraciclinas y taxanos es superior a un régimen basado en antraciclinas en términos de supervivencia libre de enfermedad, pero sin detectar diferencias en supervivencia global [79, 80]. Por último, se recomienda la administración del paclitaxel de forma semanal, y del docetaxel de forma trisemanal [81].

Basándonos en estas conclusiones, el tratamiento de elección en pacientes con afectación ganglionar consiste en un régimen que incluya antraciclinas y taxanos, mientras que el tratamiento de pacientes sin afectación ganglionar es más complejo, ya que abarca desde el tratamiento hormonal exclusivo hasta un tratamiento basado en antraciclinas y taxanos. Asimismo, en pacientes con ganglios negativos y RE-positivos es donde las plataformas genéticas tipo Mammaprint® y Oncotype® adquieren una mayor relevancia.

2.1.2.3. Terapias dirigidas (trastuzumab)

Como dijimos previamente, alrededor de un 15-20% de los tumores de mama diagnosticados presentan sobreexpresión del receptor HER2 por parte de las células neoplásicas. La sobreexpresión del receptor HER2 se asocia a tumores de alto grado, pobremente diferenciados, con alto índice mitótico y con invasión ganglionar. Además, alrededor de la mitad de los tumores HER2-positivos presentan también positividad de los receptores hormonales [21].

La sobreexpresión del receptor HER2 es un importante factor pronóstico negativo, incluso en tumores T1a/T1b con ganglios negativos [82, 83]. Sin embargo, la introducción de las terapias dirigidas contra el receptor HER2, y más específicamente trastuzumab, un anticuerpo monoclonal humanizado que se une al dominio extracelular del receptor HER2, ha cambiado radicalmente el pronóstico de este subtipo tumoral [31].

En la actualidad, se recomienda realizar tratamiento con quimioterapia y trastuzumab en aquellos tumores HER2-positivos de al menos 1 cm de diámetro y/o con afectación ganglionar. Esta recomendación se basa en los resultados de varios estudios aleatorizados en los que la adición de trastuzumab se asocia a un beneficio significativo tanto en la supervivencia libre de enfermedad como en la supervivencia global [21].

En cuanto a la duración del tratamiento, parece quedar cada vez más claro que el tiempo óptimo del tratamiento con trastuzumab debe ser de un año. Recientemente, el estudio PHARE no ha podido confirmar la no inferioridad de seis *versus* doce meses de trastuzumab, y el estudio HERA no ha demostrado un beneficio al prolongar el tratamiento con trastuzumab durante dos años [84, 85]. Con respecto a la quimioterapia a utilizar, se recomienda la combinación de antraciclinas y taxanos, e iniciar el tratamiento con trastuzumab de forma concomitante con los taxanos, o la combinación de carboplatino, docetaxel y trastuzumab tomando como base los resultados del estudio 006 del Breast Cancer International Research Group (BCIRG) [86]. Asimismo, recientemente ha sido comunicado un estudio fase II no aleatorizado en que se ha evaluado el tratamiento con doce infusiones de paclitaxel y un año de trastuzumab en pacientes con tumores menores de 3 cm de diámetro sin afectación axilar con una excelente tasa de supervivencia libre de enfermedad [87]. Aunque el seguimiento de este estudio todavía es corto, es una opción a considerar en pacientes con tumores sin afectación ganglionar, sobre todo por debajo de 1 cm.

2.1.2.4. Hormonoterapia

La terapia hormonal es una parte fundamental del tratamiento adyuvante en pacientes con tumores que expresan receptores hormonales. Como expusimos con anterioridad, las últimas guías de la ASCO recomiendan considerar positivo el RE y el RP con una tinción de tan solo un 1% de los núcleos de las células tumorales [17]. De esta forma, se amplía el número de pacientes a las que se les administrará tratamiento hormonal complementario, aunque es desconocido el beneficio de este en pacientes con positividad leve de los receptores hormonales (RE 1-10%).

El tamoxifeno, un modulador selectivo del RE, ha sido el fármaco más utilizado de forma histórica en el tratamiento hormonal adyuvante. Según los datos del metaanálisis del EBCTCG publicado en el año 2011, el tratamiento con tamoxifeno durante cinco años en pacientes con tumores RE-positivos se asocia a una disminución del 47% y del 32% ($2p < 0,00001$) en el riesgo de recurrencia, durante los años 0-4 y 5-9, respectivamente, y a una disminución del 30% ($2p < 0,00001$) en el riesgo de mortalidad durante los primeros quince años [20]. Este beneficio es independiente de la edad, del uso de quimioterapia o del estado del RP, y es mayor cuanto más prolongado es el tratamiento (cinco *versus* uno o dos años).

Posteriormente, se han ido añadiendo mejoras a este tratamiento basadas en una mayor duración del tamoxifeno (diez *versus* cinco años), en el uso de los inhibidores de la aromatasa (anastrozol, exemestano y letrozol) en pacientes posmenopáusicas y en la introducción de los análogos de la hormona liberadora de gonadotropina (LHRH) junto con tamoxifeno o inhibidores de la aromatasa en pacientes premenopáusicas.

Los estudios ATLAS y ATTOM compararon el tratamiento con cinco *versus* diez años de tamoxifeno. A pesar de la presencia de claras limitaciones en ambos estudios, solo la mitad de las pacientes en el estudio ATLAS tenían tumores RE-positivos y en hasta un 60% de las pacientes del estudio ATTOM no se había determinado el RE, el tratamiento prolongado se asoció de forma significativa a un beneficio en supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global [88, 89]. Ese beneficio era independiente del estado ganglionar y sobre todo fue más significativo a partir del décimo año de seguimiento. Asimismo, y como era de esperar, la mayor duración del tratamiento se asoció a un incremento en los efectos secundarios típicamente asociados al tamoxifeno, como son la embolia pulmonar (riesgo relativo de 1,67; $p = 0,01$) y el cáncer de endometrio (3,1% *versus* 1,6%), sin evidenciarse diferencias en mortalidad dado el diagnóstico en estadios localizados [88]. Otro punto a destacar de estos estudios fue la inclusión de pacientes posmenopáusicas, en las que el tratamiento del grupo control, tamoxifeno durante cinco años, no representa el tratamiento de elección en la actualidad.

En las pacientes posmenopáusicas, los inhibidores de la aromatasa administrados tanto de inicio como de forma secuencial después del tamoxifeno (*switch* corto tras dos o tres años de tamoxifeno; *switch* largo tras cinco años de tamoxifeno) han mostrado un beneficio en la reducción del riesgo de recaída con respecto al tamoxifeno, y presentan un perfil de toxicidad característico en forma de síndrome músculo-esquelético e incremento de la pérdida de densidad mineral ósea. Sin embargo, este beneficio en el riesgo de recaída no se ha asociado de forma consistente con un beneficio en la supervivencia global [90]. Tomando como base estos estudios, las guías sobre hormonoterapia de la ASCO recomiendan en mujeres posmenopáusicas la incorporación de un inhibidor de la aromatasa al tratamiento adyuvante en algún momento, sin que hasta la fecha se haya determinado cuál es la mejor estrategia. En la **tabla 4** se encuentran resumidos los estudios más relevantes de tratamiento con inhibidores de la aromatasa en mujeres posmenopáusicas.

Tabla 4

Ensayos clínicos fase III con inhibidores de la aromatasa en mujeres posmenopáusicas

Estudio clínico	IA en estudio	Seguimiento (meses)	SLE HR (IC 95%)	p
De entrada	IA vs. T			
ATAC [91]	Anastrozol	100	0,85 (0,76-0,94)	0,003
BIG 1-98 [92]	Letrozol	51	0,82 (0,71-0,95)	0,007
Switch corto	T vs. T→IA			
IES [93]	Exemestano	91	0,81 (0,71-0,92)	0,001
ITA [94]	Anastrozol	64	0,57 (0,38-0,85)	0,005
ARNO 95 ABCSG-8 [95]	Anastrozol	28	0,60 (0,44-0,81)	0,0009
Switch largo	T→IA vs. T→Placebo			
MA.17 [96]	Letrozol	64	0,52 (0,45-0,61)	<0,001

HR: *hazard ratio*; IA: inhibidor de la aromatasa; IC 95%: intervalo de confianza al 95% para la *hazard ratio*; SLE: supervivencia libre de enfermedad; T: tamoxifeno.

Por último, se ha evaluado la adición de análogos de LHRH al tratamiento con tamoxifeno o inhibidores de la aromatasa en pacientes premenopáusicas tomando como base los resultados satisfactorios de esta maniobra en el contexto de enfermedad avanzada [97]. Recientemente se han publicado los resultados de un análisis combinado de los estudios SOFT/TEXT que confirma un beneficio tanto en supervivencia libre de enfermedad como en supervivencia global del tratamiento con análogos de LHRH y exemestano sobre el tratamiento con análogos de LHRH y tamoxifeno [98]. Como era de esperar, el perfil de toxicidad fue diferente, aunque no se detectaron diferencias en términos de calidad de vida ni en la tasa de discontinuación con ambos tratamientos. Posteriormente, se han publicado los resultados del estudio SOFT que también confirman el beneficio de la adición del tratamiento con análogos de LHRH al tratamiento con tamoxifeno o exemestano con respecto al tratamiento exclusivo con tamoxifeno, aunque solamente en las pacientes que habían recibido quimioterapia adyuvante, y que además fue muy significativo en las pacientes con edad menor de 35 años [99].

En conclusión, el tratamiento hormonal de elección en las pacientes posmenopáusicas debe incluir siempre un inhibidor de la aromatasas, mientras que los estudios ATLAS, ATTOM y SOFT/TEXT han aumentado las opciones terapéuticas y la complejidad de la hormonoterapia adyuvante en pacientes premenopáusicas, sin haber un consenso claro en la actualidad sobre los criterios para recomendar cada una de estas opciones terapéuticas.

2.1.2.5. Radioterapia

El objetivo principal de la radioterapia en el contexto adyuvante del cáncer de mama, extensamente evaluado en múltiples estudios, es disminuir la posibilidad de una recaída locorregional. Asimismo, y de forma más inesperada, la radioterapia también se ha asociado a un beneficio en la supervivencia global en dos metaanálisis [100, 101], tanto en pacientes sometidas a cirugía conservadora como tras mastectomía. De estos resultados se puede concluir que por cada cuatro recurrencias locorregionales que evita la radioterapia, se previene una muerte causada por el cáncer de mama tras quince años de seguimiento.

La radioterapia externa normofraccionada es el tratamiento estándar en la actualidad, aunque se están evaluando en la práctica clínica otras técnicas, como son la radioterapia externa hipofraccionada, la irradiación parcial de la mama y la radioterapia intraoperatoria.

Las indicaciones actuales para administrar tratamiento con radioterapia adyuvante en pacientes intervenidas quirúrgicamente de un cáncer de mama son [102]:

1. Tras mastectomía:

- a) Tumores mayores de 5 cm de diámetro. La irradiación se lleva a cabo sobre la pared torácica y se irradian adicionalmente las cadenas ganglionares según el estado ganglionar.
- b) Afectación ganglionar axilar de cuatro o más ganglios. En este caso, la irradiación se realiza tanto sobre pared torácica como sobre cadenas ganglionares.
- c) Existe controversia sobre el papel de la radioterapia en las pacientes que tienen entre uno y tres ganglios linfáticos axilares afectados, por lo que debe

individualizarse su administración en este grupo de pacientes. En el metaanálisis mencionado previamente, la radioterapia también redujo de forma significativa la recurrencia locorregional y la mortalidad en esta situación clínica [100]. En la actualidad está en marcha el estudio aleatorizado SUPREMO, que está evaluando el tratamiento de radioterapia *versus* observación en este grupo de pacientes [103].

2. Tras cirugía conservadora. De entrada siempre hay que administrar radioterapia adyuvante sobre la mama restante, y se deben irradiar también las cadenas ganglionares según el estado ganglionar. En algunos casos podría omitirse este tratamiento, como por ejemplo, en pacientes de edad avanzada con tumores pequeños y hormonosensibles. Dos estudios aleatorizados, el 9343 del CALGB y el PRIME 2, han evaluado esta opción [104, 105]. Ambos estudios demostraron que en pacientes por encima de 65 o 70 años con tumores con expresión de receptores hormonales y sin afectación ganglionar axilar, el omitir la radioterapia se asociaba a un leve incremento en el riesgo de recurrencia locorregional que no impactaba en términos de supervivencia. También se debe añadir que la radioterapia hipofraccionada es una opción interesante en estas pacientes debido a la mayor comodidad de administración. Por lo tanto, se debe individualizar el tratamiento en este grupo de pacientes.

2.2. Cáncer de mama localmente avanzado

El tratamiento neoadyuvante o preoperatorio se ha convertido en una opción terapéutica frecuentemente utilizada en pacientes con cáncer de mama localmente avanzado, grupo en el que habitualmente se suelen incluir los tumores T3/T4 y/o con importante afectación ganglionar locorregional (N2/N3). Los principales objetivos de esta modalidad son:

1. Incrementar la tasa de cirugía conservadora y posibilitar la cirugía de tumores irresecables.
2. Tratamiento precoz de la enfermedad micrometastásica.
3. Evaluar *in vivo* la sensibilidad del tumor a una terapia específica.
4. Estudio de biomarcadores.
5. Aprobación acelerada de nuevos fármacos.

A nivel clínico, el tratamiento preoperatorio con quimioterapia es capaz de disminuir el tamaño tumoral y se evita así la realización de una mastectomía en un porcentaje importante de pacientes. De una forma consistente, el tratamiento neoadyuvante se ha asociado a un incremento en la tasa de cirugía conservadora en diferentes estudios

aleatorizados [106, 107]. Sin embargo, y en contra de lo que se pudiera pensar, no hay diferencias en términos de supervivencia entre el tratamiento adyuvante y neoadyuvante a pesar del tratamiento precoz de la enfermedad micrometastásica [108]. Asimismo, el tratamiento preoperatorio permite evaluar *in vivo* la sensibilidad del tumor a una terapia específica, lo cual posibilitaría cambiar de tratamiento en función de la respuesta alcanzada. El estudio clínico fase III GeparTrio se diseñó específicamente para dar respuesta a esta pregunta. Se incluyeron 2.090 pacientes que recibieron inicialmente dos ciclos de docetaxel, adriamicina y ciclofosfamida (TAC). Las 622 pacientes (30%) que no respondieron a este tratamiento fueron asignadas de forma aleatoria a recibir adicionalmente cuatro ciclos de TAC o cuatro ciclos de capecitabina y vinorelbina; en las pacientes que recibieron tratamiento con capecitabina y vinorelbina se observó un incremento significativo en la supervivencia libre de enfermedad, a pesar de que no se detectaron diferencias en la tasa de respuesta completa patológica (RCp) con ambos tratamientos [109].

Además de los objetivos clínicos del tratamiento neoadyuvante, este contexto ha ganado en interés para el estudio de biomarcadores. El ensayo clínico I-SPY fue diseñado con el fin de evaluar diferentes marcadores que nos ayudarán a predecir la RCp [110]. Para ello, los investigadores utilizaron tanto la resonancia magnética nuclear como otros estudios moleculares, entre los que se encontraban la expresión génica, la hibridación genómica comparada y la secuenciación. Los autores concluyeron que la respuesta al tratamiento podía ser predicha por múltiples de los marcadores analizados.

El modelo de tratamiento preoperatorio también se está utilizando para la aprobación acelerada de nuevos fármacos. La RCp se ha posicionado en pacientes con cáncer de mama tratadas con quimioterapia preoperatoria como el objetivo primario habitual, ya que se ha correlacionado con un mejor pronóstico. Dos metaanálisis identificaron la RCp como un marcador subrogado de supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global, principalmente en pacientes con tumores HER2-positivos sin expresión de receptores hormonales y en pacientes con tumores triple-negativos [111, 112]. Tomando como base estos hallazgos, la Agencia Americana de Alimentos y Medicamentos (FDA, del inglés Food and Drug Administration) consideró adecuado el contexto neoadyuvante para permitir la aprobación acelerada de fármacos en pacientes con cáncer de mama, teniendo en cuenta que la RCp podía ser un marcador que probablemente, y de una forma razonable, se asocie a beneficio clínico [113]. De esta forma se conseguiría la aprobación más precoz de fármacos sin la necesidad de utilizar estudios de adyuvancia,

mucho más costosos, con mayor número de pacientes y en los que se precisa un *follow-up* más prolongado para obtener resultados. El primer ejemplo de esto ha sido la introducción del pertuzumab en el tratamiento neoadyuvante del cáncer de mama HER2-positivo tomando como base los resultados de los estudios TRYPHAENA y NEOSPHERE [114, 115].

En pacientes con cáncer de mama HER2-negativo, la adición de taxanos, bien secuencial con cuatro ciclos de docetaxel o doce infusiones de paclitaxel semanal, al tratamiento neoadyuvante con antraciclinas, o bien el tratamiento concomitante con antraciclinas y taxanos con quimioterapia esquema TAC, incrementa la tasa de respuesta clínica, la tasa de RCp y la tasa de cirugía conservadora, de ahí que en la actualidad sea considerado el tratamiento estándar en esta indicación [106, 116, 117]. En pacientes con cáncer de mama HER2-positivo, la combinación de antraciclinas, taxanos y trastuzumab se ha posicionado como el tratamiento de elección por los resultados de varios estudios aleatorizados [118, 119]. Asimismo, como apuntamos anteriormente, la FDA también ha aprobado de forma acelerada la administración de pertuzumab en estas pacientes, y está también en trámites de aprobación por la Agencia Europea del Medicamento (EMA, del inglés European Medicines Agency) para esta indicación.

En pacientes con cáncer de mama hormon sensible, el tratamiento hormonal preoperatorio también puede considerarse una opción terapéutica válida. A diferencia de la quimioterapia, la RCp es inusual con el tratamiento hormonal, por lo que se han buscado otros parámetros que permitan evaluar de forma óptima la eficacia del tratamiento. Entre los más habituales se encuentra la tasa de respuesta clínica y/o radiológica, la tasa de cirugía conservadora y, sobre todo, la reducción del valor de Ki67 a las dos semanas de iniciar el tratamiento [120].

Las pacientes que más se benefician con esta maniobra son las mujeres posmenopáusicas con tumores subtipo luminal A. Estos tumores son los que presentan una mayor expresión del RE y tienen una mayor posibilidad de alcanzar un PEPI (del inglés, *Preoperative Endocrine Prognostic Index*) score de cero tras la hormonoterapia preoperatoria [121]. Este score nos ayuda a seleccionar las pacientes que se pueden beneficiar de un tratamiento de quimioterapia complementaria tras la cirugía; un score de cero indica la no necesidad de realizar este tratamiento. En cuanto a las mujeres premenopáusicas, los datos son limitados, y debe ser indicada en pacientes muy seleccionadas, aunque probablemente es más activa la combinación de análogos de

LHRH e inhibidores de la aromatasa, hecho que también queda confirmado en el contexto adyuvante con los resultados recientemente publicados de los estudios SOFT/TEXT [98, 122].

2.3. Cáncer de mama metastásico

La finalidad del tratamiento en estas pacientes es prolongar la supervivencia pero manteniendo una adecuada calidad de vida. Antes de iniciar un tratamiento en una paciente con enfermedad metastásica se debe valorar [123]:

1. Localización de la enfermedad metastásica.
2. Estado de los receptores hormonales y del receptor HER2.
3. Intervalo libre de enfermedad.
4. Sintomatología de la paciente.
5. Preferencias de la paciente.
6. Estado menopáusico.

Múltiples estudios retrospectivos y prospectivos han confirmado la existencia de una discordancia en el estado de los receptores hormonales y del receptor HER2 entre el tumor primario y la localización metastásica, por lo que se recomienda, siempre que sea posible, biopsiar la enfermedad metastásica con el fin de confirmar la recurrencia y volver a determinar estos marcadores predictivos-pronósticos [124].

Son varias las estrategias de tratamiento sistémico disponibles en el cáncer de mama metastásico, entre las que destacan la hormonoterapia, la quimioterapia y las terapias dirigidas. Por otro lado, el papel de la cirugía está mucho más limitado en esta situación clínica, quedando restringida al tratamiento del tumor primario, aunque recientemente dos estudios aleatorizados no han demostrado un beneficio en supervivencia global para esta maniobra [125, 126], y para pacientes con una lesión metastásica solitaria donde la cirugía podría llevar a una remisión completa y a una mejoría en la supervivencia [127]. Sin embargo, no hay estudios aleatorizados que hayan valorado la cirugía en este contexto, y no está bien definido qué pacientes se pueden beneficiar de este tratamiento, por lo que se debe individualizar cada caso. En cuanto a la radioterapia, se utiliza fundamentalmente con intención antiálgica en pacientes con metástasis óseas, junto con

los bisfosfonatos o denosumab con la finalidad de disminuir los eventos esqueléticos adversos, y para el tratamiento de las metástasis cerebrales, y puede tener también un papel en el tratamiento del tumor primario, aunque no hay estudios comparativos con la cirugía en esta indicación [128-131].

El tratamiento con hormonoterapia está especialmente recomendado en pacientes con receptores hormonales positivos, en ausencia de enfermedad visceral rápidamente progresiva/sintomática o con enfermedad visceral asintomática de bajo riesgo y que tengan un intervalo libre de enfermedad prolongado, preferiblemente mayor de dos años. En pacientes premenopáusicas se recomienda como primera línea de tratamiento la combinación de bloqueo ovárico, mediante cirugía, radioterapia o análogos de LHRH, y tamoxifeno, teniendo en cuenta su superioridad sobre cada maniobra por separado [97, 132]. En las pacientes posmenopáusicas el tratamiento de elección son los inhibidores de la aromatasa, dado que este tratamiento ha mostrado una mayor tasa de respuesta y supervivencia libre de progresión que el tratamiento con tamoxifeno [133, 134]. Lo habitual es comenzar con un inhibidor de la aromatasa no esteroideo, bien letrozol o anastrozol, y se puede plantear a la progresión una segunda línea de tratamiento hormonal con exemestano, exemestano y everolimus, un inhibidor de la diana de rapamicina en células de mamífero (mTOR, del inglés *Mammalian Target of Rapamycin*), o fulvestrant, un antiestrógeno puro, según los resultados de los estudios EFECT y BOLERO-2 [135, 136].

Por otro lado, las pacientes con receptores hormonales negativos, con enfermedad visceral rápidamente progresiva/sintomática, con un intervalo libre de enfermedad corto y en las que pese a haber tenido previamente una enfermedad hormonosenible progresan a tratamiento hormonal, son las principales candidatas a recibir tratamiento con quimioterapia. Diferentes agentes quimioterápicos han demostrado actividad en esta situación clínica, como son las antraciclinas, los taxanos, la capecitabina y la eribulina. En general, los esquemas de poliquimioterapia muestran una mayor tasa de respuesta, un incremento en la supervivencia libre de progresión, y en algunos casos, un incremento en la supervivencia global [137, 138]. Esta mejor eficacia se acompaña como es de esperar de una mayor toxicidad.

Diferentes estudios también han evaluado la combinación de antraciclinas y taxanos en primera línea de tratamiento. Estos estudios fueron incluidos en un metaanálisis que

confirmó que la combinación de antraciclinas y taxanos era superior a un régimen basado en antraciclinas en términos de tasa de respuesta y supervivencia libre de progresión, sin observarse diferencias en supervivencia global, y con un incremento significativo de la toxicidad [139]. Por todo esto, la combinación de diferentes agentes quimioterápicos se recomienda en aquellas situaciones donde haya una necesidad de obtener una respuesta rápida, o ante una progresión acelerada de la enfermedad que condicione un deterioro rápido del estado general de la paciente [140]. En líneas generales, el tratamiento de primera línea suele incluir antraciclinas y/o taxanos en función del tratamiento adyuvante administrado, de la intención del tratamiento y de la situación clínica de la paciente. En pacientes que han recibido antraciclinas y taxanos, el tratamiento con capecitabina suele ser el tratamiento más administrado [141]. Por último, en pacientes ya tratadas con antraciclinas y taxanos, la eribulina es el único fármaco que ha demostrado un beneficio en supervivencia global en este contexto, como se evidenció en el estudio clínico EMBRACE [142].

Otra opción en la primera línea de tratamiento es la adición de bevacizumab, un anticuerpo monoclonal humanizado contra el factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGF-A, del inglés *Vascular Endothelial Growth Factor A*). Este compuesto con actividad antiangiogénica ha sido evaluado en tres estudios clínicos en primera línea en combinación con quimioterapia, y en todos ellos se ha detectado un incremento en la tasa de respuesta y de la supervivencia libre de progresión, pero sin diferencias en la supervivencia global [143-145].

En el caso de tumores con sobreexpresión del receptor HER2, el tratamiento consistirá en una combinación de quimioterapia u hormonoterapia con terapia anti-HER2. En pacientes posmenopáusicas con receptores hormonales positivos la combinación de letrozol y anastrozol con lapatinib y trastuzumab, respectivamente, aumentan la tasa de respuesta y la supervivencia libre de progresión con respecto al tratamiento hormonal exclusivo en la primera línea de tratamiento [146, 147]. A pesar de estos resultados, su eficacia parece ser inferior a la de los regímenes basados en quimioterapia con taxanos y trastuzumab, por lo que se debe individualizar muy bien su uso [148, 149]. En la actualidad, el tratamiento de elección en primera línea es la combinación de docetaxel, trastuzumab y pertuzumab según los resultados del estudio CLEOPATRA, y se observa un beneficio significativo en todos los objetivos del estudio con respecto al tratamiento con docetaxel y trastuzumab [150]. En segunda línea, el tratamiento con T-DM1 ha demostrado superioridad con respecto al tratamiento con capecitabina y lapatinib en el

estudio EMILIA en pacientes refractarios a tratamiento con taxanos y trastuzumab [151]. Debido a los resultados de este estudio, T-DM1 debe considerarse el tratamiento de elección en este grupo de pacientes.

3. Receptor del factor de crecimiento fibroblástico

Los recientes avances en la investigación del cáncer de mama están permitiendo un conocimiento más profundo de su biología molecular, y condicionan la posibilidad de realizar tratamientos cada vez más personalizados, así como de mejorar las opciones terapéuticas de las pacientes.

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea con múltiples presentaciones clínicas. Como señalamos previamente, en los últimos años, y gracias a los estudios de expresión génica, se ha clasificado el cáncer de mama en cuatro grandes subtipos: luminal A, luminal B, basal y HER2-*enriched*, lo que ha llevado a una nueva clasificación molecular del cáncer de mama con implicaciones tanto pronósticas como terapéuticas [28].

Asimismo, se ha diseccionado de forma específica y detallada cada subtipo de cáncer de mama por parte del proyecto del Atlas del Genoma del Cáncer (TCGA, del inglés *The Cancer Genome Atlas*), lo que permite disponer del retrato molecular de cada tumor [152]. Sin embargo, a pesar de estos progresos, en la actualidad solamente hay aprobados cinco tratamientos dirigidos, cuatro para tumores con positividad del receptor HER2 y uno para tumores luminales, sin considerar los tratamientos hormonales [21, 135, 150, 151, 153].

Durante los últimos años, el receptor del factor de crecimiento fibroblástico (FGFR, del inglés *Fibroblast Growth Factor Receptor*) se ha posicionado como un receptor tirosina quinasa con una importante implicación en la proliferación, angiogénesis y supervivencia tumoral [154]. Todo esto hace que este receptor sea una potencial diana terapéutica que debería ser correctamente evaluada.

3.1. Vía de señalización del FGFR y los factores de crecimiento fibroblástico

Tanto los factores de crecimiento fibroblástico (FGF, del inglés *Fibroblast Growth Factors*) como los FGFR están involucrados en diferentes procesos fisiológicos, como son el desarrollo embrionario, la regulación de la angiogénesis y la reparación de heridas, entre

otros. Además, como hemos señalado anteriormente, esta vía desempeña un papel crucial en la proliferación y la supervivencia tumoral. Todo esto justifica que las alteraciones en esta vía se hayan asociado de forma consistente a diferentes tipos de cáncer, así como a varios trastornos del desarrollo [154].

Existen cuatro FGFR (FGFR1, FGFR2, FGFR3 y FGFR4) y dieciocho ligandos (FGF1–FGF10 y FGF16–FGF23). Asimismo, además de estos cuatro receptores clásicos, hay otras isoformas con distinta afinidad para unirse a los ligandos y que se generan mediante el *splicing* alternativo de la inmunoglobulina III (IgIII) en los receptores FGFR1, FGFR2 y FGFR3.

Cada receptor está compuesto de un dominio extracelular, un dominio transmembrana y un dominio citoplasmático con actividad tirosina quinasa. La región extracelular contiene tres dominios con una estructura similar a las de las inmunoglobulinas (IgI, IgII e IgIII), y una caja ácida que está típicamente localizada entre la IgI y la IgII. Los dominios de la IgII y la IgIII constituyen el sitio de unión al ligando [155]. La región intracelular está formada por la estructura habitual de este tipo de receptores con un dominio yuxtamembrana, el inserto de quinasa y una cola carboxi terminal (C-terminal) [154].

En cuanto a los ligandos, se pueden categorizar en dos grandes grupos. El primero consiste en los ligandos con una estructura similar a las hormonas. Dentro de este grupo se encuentran el FGF19, el FGF21 y el FGF23, que funcionan de una manera endocrina y se pueden unir a los receptores mediante la presencia de las proteínas klotho, un grupo de proteínas con actividad β -glucuronidasa. El segundo grupo está compuesto por los ligandos canónicos (FGF1–FGF10, FGF16–FGF18, FGF20 y FGF22) que son capturados en la superficie celular o en la matriz extracelular mediante glicosaminoglicanos heparán sulfatos y que actúan como factores de crecimiento paracrinos o autocrinos.

La unión de los ligandos a los FGFR conduce a la dimerización del receptor que lleva a la transfosforilación de una tirosina en el *loop* de activación del dominio quinasa. Posteriormente, el receptor ya activado fosforila a sus sustratos intracelulares, principalmente el sustrato dos del FGFR (FRS2, del inglés *Fibroblast Growth Factor Receptor Substrate 2*) y la fosfolipasa C. El FRS2 promueve la activación de vías de señalización involucradas en el crecimiento y la supervivencia celular, como son la vía de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK, del inglés *Mitogen-Activated Protein Kinase*) y la vía de la fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K, del inglés

Phosphatidylinositol 3-Kinase)-AKT. Por otro lado, la fosfolipasa C libera iones de calcio desde el compartimento intracelular, lo que conlleva la activación de señales dependientes de calcio. Además, hay otras proteínas efectoras que se activan a través de los FGFR, como son los factores activadores y transductores de señal (STAT, del inglés *Signal Transducer and Activator of Transcription*), Src y RAF mediante la estimulación de la proteína quinasa C [156].

3.2. Alteraciones moleculares en la vía de señalización del FGFR/FGF en pacientes con cáncer de mama

En el cáncer humano se han descrito múltiples alteraciones moleculares en la vía del FGFR/FGF que incluyen amplificaciones génicas, mutaciones, polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, del inglés *Single Nucleotide Polymorphisms*) y más recientemente fusiones de genes [154, 157]. Sin embargo, no todas estas alteraciones parecen tener un papel en la progresión tumoral, y el rol de muchas de ellas en el desarrollo del cáncer de mama es todavía desconocido. Así, tenemos que los SNP en el promotor del gen del *FGFR2* se han asociado de forma amplia con una predisposición a desarrollar cáncer de mama y se consideran a día de hoy exclusivamente un gen de susceptibilidad [158].

En pacientes con cáncer de mama, las amplificaciones de los genes del *FGFR1* y *FGFR2* son las alteraciones moleculares más frecuentemente detectadas, y las mutaciones activantes son poco relevantes.

3.2.1. Amplificación del gen del *FGFR1*

La región cromosómica 8p11-12 que contiene el locus del gen del *FGFR1* está amplificada en alrededor de un 10% de las pacientes con cáncer de mama, principalmente en tumores con expresión de receptores hormonales y negatividad del receptor HER2, aunque también se ha notificado esta alteración en tumores HER2-positivos y triple-negativos [152, 159]. A su vez, merece la pena destacar que en esta región existen otros genes diferentes del que codifica al *FGFR1* y que también están implicados en la oncogénesis del cáncer de mama. Además, hasta un tercio de las pacientes que tienen amplificado el gen del *FGFR1* tienen de forma simultánea

amplificado un amplicón localizado en el cromosoma 11q12-14 que contiene genes que codifican para ligandos, como son los FGF3, FGF4, FGF19 y la ciclina D1, todos ellos también con un papel relevante en el desarrollo tumoral [160, 161]. A pesar de esto, estudios *in vitro* han demostrado que la inhibición de la expresión del FGFR1 *per se* es suficiente para inhibir el crecimiento de líneas celulares de cáncer de mama con sobreexpresión del FGFR1, lo que apoya el papel oncogénico de este receptor [162]. Por último, al igual que ocurre con el gen del *HER2*, la amplificación del gen del *FGFR1* se ha asociado de forma consistente a la sobreexpresión del FGFR1 [163].

3.2.2. Amplificación del gen del *FGFR2*

El gen que codifica al FGFR2 se encuentra localizado en el cromosoma 10q26 y está amplificado en alrededor de un 4% de los tumores de mama triple-negativos. Sin embargo, la amplificación de este receptor en otros subtipos de cáncer de mama es anecdótica [152, 164]. Asimismo, a diferencia de la amplificación del gen del *FGFR1*, la amplificación de otros oncogenes en este amplicón no es tan relevante, así como la coamplificación con otras regiones cromosómicas.

3.2.3. Amplificación de los genes del *FGFR3* y del *FGFR4*

La amplificación del gen del *FGFR3* ha sido comunicada de forma puntual en pacientes con cáncer de mama, y es inferior al 1% [152]. En cuanto a la amplificación del gen del *FGFR4*, ha sido detectada en alrededor de un 10% de las pacientes con cáncer de mama, principalmente en tumores con expresión de receptores hormonales y con mayor afectación ganglionar [165]. En la misma dirección, otro estudio ha detectado la presencia de niveles elevados de ácido ribonucleico (ARN) mensajero de este receptor en hasta un 30% de las pacientes con cáncer de mama [166]. Sin embargo, series más recientes, como la del TCGA, han publicado un porcentaje inferior de amplificación del gen del *FGFR4* ($\approx 1\%$) [152].

3.2.4. Amplificación del amplicón 11q

Alrededor de un 15% de las pacientes con cáncer de mama presentan la amplificación del amplicón 11q, localizado en el cromosoma 11q12-14, y en el que se encuentran, entre otros, los genes que codifican para los ligandos FGF3, FGF4 y FGF19, como hemos descrito previamente [152]. Aproximadamente un tercio de las pacientes con amplificación del gen del *FGFR1* tienen de forma asociada amplificación del amplicón 11q, aunque la mayor parte de las pacientes con amplificación del amplicón 11q no presentan amplificación del gen del *FGFR1*. Globalmente, alrededor de un 25% de las pacientes con cáncer de mama presentan amplificación del gen del *FGFR1* y/o del amplicón 11q.

3.2.5. Mutaciones activantes

Aunque las mutaciones de los genes que codifican los FGFR son frecuentes en otros tumores, como endometrio (*FGFR2*) y vejiga (*FGFR3*), su incidencia es mucho menor en cáncer de mama, y su papel es desconocido en la actualidad [152, 154]. Sin embargo, se han detectado mutaciones puntuales en genes que codifican los FGFR, tanto en pacientes con cáncer de mama como en líneas celulares, como por ejemplo las mutaciones S125L en *FGFR1*, N549K, R203C y S587C en *FGFR2*, P689S en *FGFR3* y A484T y E326K en *FGFR4* en muestras de cáncer de mama, y la mutación Y367C en *FGFR4* en la línea celular MDA-MB-453 [152, 167, 168].

Además, la introducción de nuevas técnicas de análisis genómico ha propiciado la identificación de genes de fusión con los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* con potencial oncogénico [157]. Por este motivo, la implementación progresiva de herramientas de secuenciación masiva en la práctica clínica habitual está favoreciendo la identificación de nuevas alteraciones moleculares, no solamente para los genes que codifican los FGFR, sino también para otros genes relevantes en el desarrollo del cáncer de mama.

3.3. Relevancia clínica de las alteraciones moleculares en la vía de señalización del FGFR/FGF en pacientes con cáncer de mama

Hay disponibles múltiples datos preclínicos que demuestran que tanto los *xenografts* como las líneas celulares de cáncer de mama con amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* son más sensibles que los modelos no amplificados a los inhibidores de los FGFR [169, 170]. Este hecho, junto a las alteraciones descritas en esta vía en pacientes con cáncer de mama, la convierte en un objetivo atractivo en esta población.

Varios estudios han confirmado la importancia clínica y biológica de la amplificación del gen del *FGFR1*. Inicialmente, Elsheikh y cols. publicaron que la amplificación del gen del *FGFR1* se correlacionaba de una forma significativa con una peor supervivencia global, fundamentalmente en las pacientes con tumores con expresión de receptores hormonales [159]. Asimismo, la amplificación del gen del *FGFR1* se ha asociado a tumores con menor expresión del RP y con una mayor capacidad proliferativa, características relacionadas con los tumores luminales B [33, 171], así como con una peor supervivencia libre de metástasis a distancia. Por último, la amplificación del gen del *FGFR1* se ha asociado a resistencia al tratamiento hormonal, y las líneas celulares con amplificación del gen del *FGFR1* han mostrado resistencia al 4-hidroxitamoxifeno, un metabolito activo del tamoxifeno, que puede ser revertida al silenciar el gen del *FGFR1* mediante ARN de interferencia.

Con respecto a las alteraciones del gen del *FGFR2*, hay menos estudios que hayan evaluado su impacto a nivel clínico. De este modo, aunque el papel de este receptor en la resistencia a diferentes agentes terapéuticos no ha sido correctamente valorado, un aumento de la expresión del FGFR2 se ha asociado con una peor supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad en pacientes con cáncer de mama [172].

Finalmente, al igual que la amplificación del gen del *FGFR1*, un SNP en el codón 388 del gen del *FGFR4*, también se ha correlacionado con una peor supervivencia libre de enfermedad y con resistencia primaria al tratamiento adyuvante [173, 174].

3.4. Opciones terapéuticas sobre los FGFR

Existen diferentes formas de poder actuar sobre el receptor, ya sea mediante anticuerpos monoclonales que se unen al dominio extracelular del receptor, por medio de receptores solubles que se unen a los ligandos del receptor, como el compuesto GSK3052230, y sobre todo, mediante el uso de inhibidores tirosina quinasa de los FGFR.

Dentro de estos inhibidores están los selectivos, que solamente inhiben a los FGFR, y los no selectivos o multiquinasas, que inhiben tanto a los FGFR como a otros receptores. En la **tabla 5** se encuentran resumidos los compuestos más relevantes que actúan contra esta vía, su fase de desarrollo y los receptores sobre los que actúan.

Hay en desarrollo clínico varios inhibidores selectivos, como son JNJ42756493, Debio1347, ARQ087, TAS-120, BAY1163877 y AZD4547, aunque es el BGJ398 el que está más adelantado en la clínica. Todos estos agentes inhiben a bajas concentraciones nanomolares los receptores FGFR1, FGFR2 y FGFR3, con una inhibición variable del FGFR4 por parte de cada uno de ellos. Con el BGJ398 se está llevando a cabo un estudio fase I (CBGJ398X2101, NCT01004224) en el que se incluyen pacientes con tumores sólidos que presentan alguna alteración molecular a nivel de los FGFR [175]. La máxima dosis tolerada (MTD) que se alcanzó en la fase de escalada de dosis fue de 125 mg al día, con un perfil de toxicidad adecuado, y como efectos secundarios más relevantes destacaban la hiperfosfatemia y la toxicidad mucocutánea en forma de sequedad de piel, alteraciones ungueales y mucositis. Como otras toxicidades también se han descrito el aumento de los niveles de creatinina, de creatinfosfoquinasa y de lipasa. Por el contrario, las alteraciones identificadas en modelos animales a nivel corneal y retiniano, entre las cuales las más típicas son la queratoconjuntivitis seca y el desprendimiento neurosensorial subfoveal, se han comunicado de forma muy puntual a nivel clínico, y generalmente son reversibles y de leve intensidad. En cuanto a la actividad antitumoral, se han observado respuestas en carcinomas escamosos de pulmón con amplificación del gen del *FGFR1* y, sobre todo, en tumores uroteliales con alteración en el gen del *FGFR3*. Sin embargo, la actividad en pacientes con cáncer de mama, predominantemente con amplificación del gen del *FGFR1*, ha sido limitada, sin evidenciarse respuestas objetivas. Por este motivo, se ha abierto una nueva cohorte para evaluar la actividad del fármaco en pacientes con tumores uroteliales con mutación o traslocación del gen del *FGFR3*.

Tabla 5

Inhibidores tirosina quinasa de los FGFR en desarrollo clínico
y estudios clínicos más relevantes

Inhibidores	Receptor	Fase de desarrollo	Contexto	Población	Registro de identificación
Selectivos					
BGJ398	FGFR1, FGFR2, FGFR3	I (monoterapia)	Metastásico	Tumores sólidos	NCT01004224
		I (en combinación con BYL719)	Metastásico	Tumores sólidos	NCT01928459
JNJ42756493	FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4	I (monoterapia)	Metastásico	Tumores sólidos	NCT01962532
Debio1347	FGFR1, FGFR2, FGFR3	I (monoterapia)	Metastásico	Tumores sólidos	NCT01948297
TAS-120	FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4	I (monoterapia)	Metastásico	Tumores sólidos	NCT02052778
AZD4547	FGFR1, FGFR2, FGFR3	I (monoterapia)	Metastásico	Tumores sólidos	NCT00979134
		II aleatorizado (en combinación con fulvestrant vs. fulvestrant)	Metastásico	Cáncer de mama	NCT01202591
		II aleatorizado (en combinación con anastrozol/letrozol vs. exemestano)	Metastásico	Cáncer de mama	NCT01791985
ARQ087	FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4	I (monoterapia)	Metastásico	Tumores sólidos	NCT01752920
BAY1163877	FGFR1, FGFR2, FGFR3	I (monoterapia)	Metastásico	Tumores sólidos	NCT01976741
No selectivos					
Dovitinib	FGFR1, FGFR2, FGFR3, VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, PDGFR β , KIT, RET, FLT3	II aleatorizado (en combinación con fulvestrant vs. fulvestrant)	Metastásico	Cáncer de mama	NCT01528345
Lucitanib	FGFR1, FGFR2, VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3	II (monoterapia)	Metastásico	Cáncer de mama	NCT02053636
					NCT02202746
Nintedanib	FGFR1, FGFR2, FGFR3, VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, PDGFR α , PDGFR β , FLT3	II (en combinación con docetaxel vs. docetaxel)	Metastásico	Cáncer de mama	NCT01658462
		I/II (en combinación con paclitaxel vs. paclitaxel)	Neoadyuvancia	Cáncer de mama	NCT01484080

FGFR: receptor del factor de crecimiento fibroblástico; FLT3: receptor tirosina quinasa del FLT3; PDGFR β : receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas beta; VEGFR: receptor del factor de crecimiento endotelial vascular.

En cuanto a los inhibidores no selectivos, hay que destacar el lucitanib (E-3810), el dovitinib (TKI-258) y el nintedanib (BIBF 1120). El lucitanib es un inhibidor multiquinasa que inhibe a los FGFR, principalmente a los receptores FGFR1 y FGFR2, y al receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR, del inglés *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor*). En un estudio fase I/II (NCT01283945) con este compuesto en el que se incluyeron 76 pacientes con tumores sólidos avanzados se confirmó una importante actividad en pacientes con cáncer de mama con amplificación del gen del *FGFR1* o del amplicón 11q determinada por un test de ISH o hibridación genómica comparada, con seis respuestas parciales confirmadas en doce pacientes evaluables, y se alcanzó una mediana de supervivencia libre de progresión superior a los nueve meses [176]. En cuanto al perfil de toxicidad, el fármaco presentó las toxicidades típicas de los agentes antiangiogénicos, como son la hipertensión arterial y la proteinuria. Además, se describieron otras toxicidades relevantes, como la digestiva en forma de náuseas, vómitos y diarreas, la astenia, la anorexia, el dolor muscular, la alteración de la función hepática y el hipotiroidismo. Sin embargo, no se ha descrito hiperfosfatemia con este agente, lo que hace pensar que este tratamiento pueda ser más efectivo por su efecto antiangiogénico que por su efecto sobre los FGFR. Todo esto lo convierte en un fármaco potencialmente eficaz para pacientes con cáncer de mama con amplificación del gen del *FGFR1* o del amplicón 11q determinada por un test de ISH o hibridación genómica comparada, pero con un perfil de toxicidad no tan favorable como el de los inhibidores selectivos, lo que está llevando a una gran dificultad para determinar la dosis y el esquema más recomendados. Actualmente, hay en marcha un estudio fase II con este agente (FINESSE, NCT02053636) para pacientes con cáncer de mama metastásico con expresión del RE con o sin amplificación del gen del *FGFR1* o del amplicón 11q [177]. La dosis que se utiliza en este ensayo clínico es de 15 mg al día, mientras que la MTD en la fase de escalada de dosis del estudio fase I/II fue de 30 mg al día. A pesar de esta reducción de dosis, el estudio se tuvo que interrumpir temporalmente por recomendación de un comité de monitorización independiente por una incidencia de hipertensión arterial y toxicidad hepática mayor de la esperada. Esto ha llevado al diseño de otro estudio fase II (NCT02202746) en el que se están comparando dos niveles de dosis diferentes de este agente, 10 y 15 mg, en pacientes con cáncer de mama metastásico con alteración de la vía.

El dovitinib es un fármaco similar al lucitanib, aunque no actúa sobre las mismas quinasas y presenta diferentes concentraciones inhibitorias (IC50) que el lucitanib. En un estudio fase II (NCT00958971) publicado por André y cols. se evaluó la actividad del

dovitinib en pacientes con cáncer de mama metastásico HER2-negativo [170]. Se incluyeron 81 pacientes en cuatro cohortes según el estado del RE y de la amplificación del gen del *FGFR1*, que se definió como la presencia de seis o más copias del gen del *FGFR1* mediante hibridación *in situ* por plata (SISH). El ensayo clínico siguió un diseño en dos fases de Simon, y aunque se evidenció actividad antitumoral, principalmente en pacientes con amplificación del gen del *FGFR1*, no se alcanzó el objetivo preestablecido para pasar a la fase II del estudio. En pacientes con amplificación del gen del *FGFR1* y expresión del RE se obtuvo una tasa de respuesta del 15%, aunque ninguna de ellas fue confirmada, mientras que en las pacientes sin amplificación del gen del *FGFR1* no se observó ninguna respuesta, independientemente del estado del RE. Además, al igual que con el lucitanib, el perfil de toxicidad no fue del todo adecuado; destacaron especialmente la astenia, la toxicidad hepática con elevación de las transaminasas y de la gamma-glutamil transpeptidasa y las alteraciones digestivas en forma de náuseas, emesis y diarreas, y llamó la atención la ausencia tanto de efectos secundarios típicos de agentes antiangiogénicos como de hiperfosfatemia.

Por último, el nintedanib es un fármaco que actúa prácticamente sobre las mismas quinasas que el dovitinib, como se puede observar en la tabla 5, y con un importante desarrollo en diferentes patologías oncológicas, principalmente en cáncer de pulmón. En el estudio fase I en monoterapia con este compuesto en el que se incluyeron 61 pacientes con tumores sólidos avanzados, de ellos solamente había dos pacientes con cáncer de mama, la MTD que se alcanzó fue de 250 mg administrados en una o dos veces al día. Los efectos secundarios más frecuentes, al igual que con el dovitinib, fueron las náuseas, la emesis, las diarreas y la toxicidad hepática, aunque se observó una menor incidencia de astenia [178]. Con este compuesto vuelve a destacar la ausencia de hiperfosfatemia y de efectos secundarios característicos de los agentes antiangiogénicos. Recientemente se ha publicado un estudio fase I que ha evaluado el tratamiento neoadyuvante con el nintedanib en combinación con paclitaxel en nueve pacientes con cáncer de mama HER2-negativo [179]. La dosis recomendada del nintedanib para posteriores estudios fase II en combinación con paclitaxel semanal fue de 150 mg dos veces al día. Las toxicidades limitantes de dosis fueron fundamentalmente en forma de alteración de la función hepática, y se obtuvo una tasa de RCp del 50% en ocho pacientes evaluables.

3.5. Otros aspectos relevantes relacionados con la vía de señalización del FGFR/FGF y la inhibición de la misma

3.5.1. La vía de señalización del FGFR/FGF como mecanismo de resistencia a tratamiento antiangiogénico

Es importante enfatizar que esta vía desempeña un papel importante en la angiogénesis tumoral debido a que algunos FGF son factores con actividad proangiogénica que pueden favorecer la formación y maduración de nuevos vasos sanguíneos. Además, también se ha descrito que esta vía puede mediar en la resistencia a diferentes terapias dirigidas contra el VEGF o el VEGFR [180]. De esta manera, numerosos datos preclínicos han mostrado un incremento de la expresión de los FGF en tumores que han progresado a tratamiento antiangiogénico y una mejor actividad antitumoral mediante la inhibición dual de los VEGFR y de los FGFR. Este hecho podría ayudar a explicar la actividad del lucitanib en pacientes que han mostrado sensibilidad previa a un tratamiento antiangiogénico [176], así como que en pacientes con cáncer de mama la eficacia de los inhibidores multiquinasa sea superior a la mostrada por los inhibidores selectivos. Por esto, se debería considerar el diseño de estudios que combinaran inhibidores selectivos de los FGFR con fármacos con actividad antiangiogénica.

3.5.2. La inhibición de la vía de señalización del FGFR/FGF puede promover una mayor eficacia del tratamiento hormonal

En la actualidad hay en marcha diferentes estudios en los que se está evaluando la combinación de terapias hormonales con inhibidores de los FGFR. La justificación de estos estudios radica en la resistencia al tratamiento endocrino que presentan los tumores con una mayor activación de esta vía [171].

Dentro de ellos, debemos destacar un estudio fase II aleatorizado (NCT01528345) en el que se estaba evaluando la combinación del dovitinib con fulvestrant *versus* fulvestrant en pacientes posmenopáusicas con cáncer de mama hormonosensible en progresión a un tratamiento hormonal previo. La aleatorización estaba estratificada por la presencia de enfermedad visceral y el estado de *FGFR1*, *FGFR2* y *FGF3* [181]. Este estudio se ha

cerrado recientemente por lento reclutamiento en la cohorte de pacientes con alteración de la vía.

AZD4547, un inhibidor selectivo de los FGFR, es otro de los compuestos que se está valorando en combinación con tratamiento hormonal en pacientes con cáncer de mama. Este agente ha mostrado un perfil de toxicidad y una actividad antitumoral similar al BGI398 en un estudio fase I (NCT00979134) [182], y también se está evaluando en dos estudios fase II aleatorizados en combinación con hormonoterapia. En el primero (NCT01202591) se está analizando la eficacia y seguridad de la combinación del AZD4547 con fulvestrant *versus* fulvestrant en monoterapia en pacientes posmenopáusicas con cáncer de mama hormonosensible con polisomía o amplificación del gen del *FGFR1* y que han presentado previamente progresión a una terapia hormonal [183]. En el segundo (NCT01791985) se está evaluando la actividad de la combinación del AZD4547 con anastrozol/letrozol *versus* exemestano en pacientes que han progresado a un tratamiento previo con anastrozol o letrozol [184].

3.5.3. Determinación de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* en la práctica clínica

No está clara la mejor forma de determinar la amplificación del gen del *FGFR1*, y mucho menos del gen del *FGFR2*, que se puede realizar tanto por un test de ISH como mediante plataformas de secuenciación de nueva generación (NGS), por hibridación genómica comparada o por reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR).

En el estudio de Elsheikh y cols. y en el análisis del TCGA, alrededor de un 10% de las pacientes presentaron amplificación del gen del *FGFR1* determinada mediante hibridación *in situ* cromogénica (CISH) o plataforma de NGS, respectivamente. Por el contrario, en el subanálisis de biomarcadores del estudio BOLERO-2 realizado también con una plataforma de NGS, se ha descrito una incidencia de amplificación del gen del *FGFR1* del 18,1%, la mayor notificada hasta la fecha [152, 159, 185]. Finalmente, en el estudio SAFIR01 de André y cols., un 13% de las pacientes presentaron amplificación del gen del *FGFR1* determinada por hibridación genómica comparada [186].

Por lo tanto, diferentes tasas de amplificación del gen del *FGFR1* se han alcanzado en función del método utilizado, y se desconoce cuál es el mejor método para predecir la

respuesta a los inhibidores de los FGFR, así como el punto de corte óptimo para detectar la amplificación. En el estudio fase I con el BGJ398 se consideró un punto de corte similar al establecido en el estudio de André y cols. con la presencia de seis o más copias del gen del *FGFR1* o del gen del *FGFR2* determinada mediante un test de ISH o qPCR, o con una *ratio FGFR1/centrómero 8* o *FGFR2/centrómero 10* mayor o igual a 2,2, considerándose también la misma definición para la amplificación del gen del *FGFR1* en el estudio fase I/II con lucitanib, pero determinada por un test de ISH o hibridación genómica comparada [170, 175, 176]. Por lo tanto, parece lógico considerar un número de copias del gen mayor o igual a seis o una *ratio* gen/centrómero mayor o igual a 2,2 determinado mediante un test de ISH, hibridación genómica comparada o qPCR como el punto de corte estándar para definir la amplificación de estos genes. Sin embargo, otras definiciones no han sido evaluadas.

3.5.4. Desarrollo de factores predictivos de respuesta a inhibidores de los FGFR

En el estudio fase II con dovitinib llevado a cabo por André y cols. se definió la amplificación del gen del *FGFR1* mediante SISH, y también de forma exploratoria se analizó la tasa de amplificación del gen por medio de qPCR [170], y se observaron diferencias en función de si se utilizaba la SISH o la qPCR. Así, había pacientes amplificadas mediante SISH pero no por qPCR y se podían identificar con mayor precisión a las pacientes respondedoras cuando la amplificación se detectaba mediante ambos métodos. Estas diferencias son lógicas teniendo en cuenta que la qPCR detecta el número de copias en toda la muestra, mientras que la SISH detecta el número de copias célula a célula.

Asimismo, en este estudio se evaluó si la amplificación de los genes del *FGFR2* o del *FGF3* detectada mediante qPCR, en combinación o no con la amplificación del gen del *FGFR1*, y los niveles en plasma de FGF23, un marcador subrogado de la inhibición del FGFR1, eran capaces de identificar a una población de pacientes más sensible al tratamiento con el dovitinib, sin poder establecerse conclusiones definitivas [170].

En la misma línea, el lucitanib también ha mostrado actividad antitumoral en pacientes con amplificación del amplicón 11q, en presencia o no de la amplificación del gen del *FGFR1* [176]. Por este motivo, el estudio fase II FINESSE con este compuesto

(NCT02053636) está incluyendo a las pacientes en tres cohortes: una para pacientes *FGFR1* amplificadas con o sin amplificación del amplicón 11q, otra para pacientes con amplificación del amplicón 11q y sin amplificación del gen del *FGFR1* y otra para pacientes sin amplificación del gen del *FGFR1* ni del amplicón 11q, con el fin de determinar el papel predictivo de la amplificación del amplicón 11q en el beneficio del tratamiento con el lucitanib.

3.5.5. Manejo de la hiperfosfatemia

La elevación de los niveles de fosfato sérico es un efecto adverso comunicado con la mayoría de los inhibidores selectivos de los FGFR. Así, en el estudio fase I con el BGJ398, la mayor parte de los pacientes presentaban elevación del fosfato sérico con niveles de dosis por encima de 100 mg al día [175]. Por este motivo, se han ido desarrollando protocolos para el manejo de esta alteración metabólica, la mayoría de ellos basándose en una dieta restrictiva en fosfato y en el uso profiláctico de sevelamer, un quelante del fosfato. Además, en casos de hiperfosfatemia refractaria se puede llegar a la interrupción del inhibidor, a la reducción de su dosis e incluso al uso de acetazolamida, un diurético que actúa inhibiendo a la anhidrasa carbónica.

De forma relevante, la hiperfosfatemia no se ha comunicado con inhibidores no selectivos de los FGFR como el lucitanib y el dovitinib, lo que puede reflejar un bloque incompleto de la vía de señalización del FGFR/FGF por parte de estos compuestos. A su vez, esta alteración bioquímica se ha postulado como un marcador farmacodinámico de la inhibición de la vía, que puede estar mediada tanto por la inhibición de la secreción tubular de fosfato a nivel renal como por un incremento de la reabsorción del mismo.

3.5.6. Combinación de los inhibidores de los FGFR con otras terapias dirigidas

Actualmente, hay un estudio fase I (CBGJ398X2102, NCT01928459) en el que se combina el BGJ398 con el BYL719, un inhibidor alfa específico de PI3K, en pacientes con mutación en la subunidad catalítica de PI3K (*PIK3CA*) y alteración a nivel de los FGFR [187]. La justificación para esta combinación se basa en potenciar la eficacia de ambos tratamientos mediante la prevención de la activación de vías de señalización alternativas

a través de los FGFR. Además, en el estudio BOLERO-2, un 6,6% de las pacientes presentaban de forma simultánea mutación en *PIK3CA* y amplificación del gen del *FGFR1*. En este estudio, el beneficio de everolimus fue menor en las pacientes con amplificación del gen del *FGFR1* o del gen del *FGFR2*, lo que también justifica el bloqueo dual de ambas vías de señalización [185].

Finalmente, la implementación de nuevas técnicas de análisis genómico y el mejor conocimiento de la biología molecular del cáncer abren la posibilidad de utilizar en un futuro próximo nuevas estrategias de combinación que incluyan a los inhibidores de los FGFR.

4. Justificación del trabajo

El conocimiento de la biología molecular del cáncer de mama se está erigiendo como un factor clave para el descubrimiento y aplicación de nuevos tratamientos a nivel clínico. Como ya hemos mencionado, los FGFR se han posicionado como una familia de receptores tirosina quinasa con una importante implicación en el desarrollo tumoral [154]. Sin embargo, todavía hay un gran desconocimiento de múltiples aspectos relacionados con esta vía, motivo por el cual se realiza este trabajo.

La amplificación del gen del *FGFR1* y del gen del *FGFR2* son las dos alteraciones moleculares más frecuentemente descritas en la vía de señalización del FGFR/FGF en pacientes con cáncer de mama [159, 164], que se han determinado por diferentes métodos, entre los que se encuentran CISH/SISH, hibridación genómica comparada, NGS o qPCR. Sin embargo, hasta el momento no se ha publicado la incidencia de la amplificación de ambos genes determinada mediante un test de hibridación *in situ* fluorescente (FISH), que es en la actualidad el método más utilizado en los ensayos clínicos con inhibidores de los FGFR.

En cuanto a la relevancia clínica de esta alteración molecular, se ha profundizado más en la importancia clínica y biológica de la amplificación del gen del *FGFR1*, y está peor definido el papel pronóstico de la amplificación del gen del *FGFR2* [172]. De ahí que otro de los objetivos de este trabajo será analizar el impacto pronóstico de la amplificación del gen del *FGFR2*, y confirmar la relevancia clínica de la amplificación del gen del *FGFR1* en el subtipo luminal, ya descrita por otros autores, valorando también la importancia de la amplificación de este gen en otros subtipos tumorales.

En este trabajo también se analizará la incidencia y relevancia clínica de la polisomía de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* en ausencia de amplificación de ambos genes, algo que a nuestro conocimiento no ha sido evaluado por otros autores, a diferencia de la polisomía del gen del *HER2*, que ha sido ampliamente analizada en pacientes con cáncer de mama, y que se define como la presencia de tres o más señales del centrómero 17 por núcleo. Aunque se ha publicado que la polisomía del cromosoma 17 en ausencia de amplificación del gen podría ser un factor predictivo de beneficio a terapias anti-HER2, la mayor parte de evidencia científica disponible va en contra de esta asociación [188].

Además, se examinará la correlación del estado de la amplificación del gen del *FGFR1* y del gen del *FGFR2* entre el tumor primario y las metástasis. Este hecho ha sido extensamente comprobado con otros biomarcadores, como son el RE, el RP y el HER2, y se han observado variaciones en el estado de todos ellos con diferente frecuencia, que pueden llevar a cambios en la decisión terapéutica en hasta un 20% de las pacientes [124]. Aunque en pacientes con cáncer de pulmón el estado de la amplificación del gen del *FGFR1* parece mantenerse durante la evolución de la enfermedad, este hecho no se ha analizado de forma adecuada en pacientes con cáncer de mama, y además no existe ningún dato en la literatura científica en relación con el estado del *FGFR2* durante la progresión del cáncer de mama [189-192]. De ahí la importancia de evaluar la concordancia en el estado de ambos genes entre el tumor primario y la localización metastásica que se va a realizar en este trabajo, y más teniendo en cuenta el probable papel predictivo del estado de la amplificación del gen del *FGFR1* y del gen del *FGFR2* en el beneficio a los tratamientos dirigidos contra los FGFR.

Finalmente, dado que en nuestro centro se está participando de una forma muy activa en el desarrollo clínico de varios inhibidores de los FGFR, también se investigará en este trabajo el impacto que tiene un programa de *pre-screening* molecular en la inclusión de pacientes en estudios clínicos con estos agentes. Este hecho ya ha sido analizado por otros grupos, aunque no de forma específica para el tratamiento con inhibidores de los FGFR [186].

5. Hipótesis

5.1. Principales

1. El estado del *FGFR* tiene una importante implicación pronóstica y terapéutica en pacientes con cáncer de mama metastásico.
2. La amplificación de los genes del *FGFR1* y/o del *FGFR2* es una alteración molecular frecuente en pacientes con cáncer de mama.

5.2. Secundarias

1. El estado del *FGFR* se asocia específicamente a determinadas características clínico-patológicas.
2. La polisomía de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* en ausencia de amplificación de ambos genes también tiene relevancia pronóstica y terapéutica en pacientes con cáncer de mama metastásico.
3. El estado del *FGFR* se asocia a otras alteraciones moleculares.
4. Hay una concordancia en el estado del *FGFR* entre el tumor primario y la localización metastásica.
5. Los programas de *pre-screening* molecular son fundamentales a la hora de incluir pacientes en ensayos clínicos basados en una alteración molecular específica.

6. Objetivos

6.1. Primarios

1. Evaluar el impacto pronóstico del estado del *FGFR1* y del *FGFR2* en pacientes con cáncer de mama metastásico.
2. Analizar la incidencia de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* determinada por FISH en pacientes con cáncer de mama.

6.2. Secundarios

1. Evaluar la concordancia entre el estado de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2*.
2. Establecer la correlación entre la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* con determinadas características clínico-patológicas.
3. Examinar la incidencia de la polisomía de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* en ausencia de amplificación de ambos genes en pacientes con cáncer de mama metastásico y su correlación con determinadas características clínico-patológicas.
4. Evaluar el impacto pronóstico del estado de la polisomía de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* y de la presencia de alteraciones a nivel del *FGFR*, a nivel del gen del *FGFR1* y a nivel del gen del *FGFR2* en pacientes con cáncer de mama metastásico.
5. Analizar la asociación entre la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* con otras alteraciones moleculares.
6. Evaluar la concordancia en el estado de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* entre el tumor primario y las metástasis.
7. Examinar la importancia de un programa de *pre-screening* molecular en la inclusión de pacientes en estudios clínicos con inhibidores de los FGFR.

7. Métodos

7.1. Tipo de estudio

Se trata de un estudio de cohortes retrospectivo en el que se han incluido a 205 pacientes diagnosticadas de cáncer de mama metastásico a las que se les ha determinado el estado de la amplificación de los genes del *FGFR1* y/o del *FGFR2*.

7.2. Selección de la muestra

Para la selección de la muestra se ha utilizado una base de datos generada con los resultados procedentes del programa de *pre-screening* molecular del Hospital Vall d'Hebron de Barcelona. Del total de pacientes incluidas en este programa, se han seleccionado a 205 pacientes con cáncer de mama metastásico a las que se les ha analizado el estado de la amplificación de los genes del *FGFR1* y/o del *FGFR2* durante el periodo de tiempo comprendido entre los años 2010 y 2014.

7.3. Análisis de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* y definición de polisomía en ausencia de amplificación del gen

Se ha analizado el estado de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* en muestras procedentes del tumor primario y/o de la localización metastásica indistintamente, según disponibilidad. En el caso de que hubiera varias muestras procedentes de la misma paciente, la determinación del estado de ambos genes se realizó siempre en la última muestra tumoral disponible. Asimismo, si había muestras pareadas procedentes del tumor primario y la localización metastásica, el estado de la amplificación de los genes del *FGFR1*, en primer lugar, y del *FGFR2*, en segundo lugar, se realizó en ambas muestras.

La determinación de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* se ha llevado a cabo por medio de FISH. El análisis ha sido realizado por dos patólogos del centro de

patología molecular del Hospital Universitario Vall d'Hebron. La sonda utilizada para la determinación de la amplificación del gen del *FGFR1* ha sido la *ZytoLight® SPEC FGFR1/centrómero 8 Dual Color Probe* de Zytovision con referencia Z-2072-200, mientras que para la determinación de la amplificación del gen del *FGFR2* se ha utilizado la sonda *ZytoLight® SPEC FGFR2/centrómero 10 Dual Color Probe* de la misma compañía con referencia Z-2122-200.

El criterio para definir la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* ha sido una *ratio FGFR1/centrómero 8* o *FGFR2/centrómero 10* mayor o igual a 2,2, o si el número de copias del gen del *FGFR1* o del gen del *FGFR2* era mayor o igual a seis. El uso de estos criterios para definir la amplificación de ambos genes se ha sustentado en la evidencia científica disponible en la actualidad, como ya hemos indicado anteriormente en el trabajo [170, 175, 176]. Las pacientes con resultado discordante del estado del *FGFR1* en muestras pareadas procedentes del tumor primario y de la localización metastásica se han considerado como pacientes *FGFR1* amplificadas a los efectos de este trabajo.

Finalmente, se ha definido la polisomía de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* en ausencia de amplificación de ambos genes como la presencia de tres o más señales del centrómero 8 y 10 por núcleo en ausencia de amplificación, respectivamente.

7.4. Variables clínico-patológicas recogidas

Se han recogido las siguientes variables clínicas: la edad en el momento del diagnóstico, el estado menopáusico, la fecha del diagnóstico de la enfermedad, de la intervención quirúrgica, del último seguimiento clínico y de la defunción en el caso de que hubiera tenido lugar en el momento del análisis de los datos, el tratamiento (neo)adyuvante realizado, la localización y el número de metástasis a distancia, la supervivencia libre de enfermedad, la supervivencia global y el tiempo libre de progresión de la primera línea de tratamiento con hormonoterapia en las pacientes que no habían recibido ningún tratamiento previo en el contexto de la enfermedad avanzada. La supervivencia libre de enfermedad se ha definido como el tiempo transcurrido desde el diagnóstico hasta la recaída de la enfermedad o muerte de la paciente, y la supervivencia global como el tiempo transcurrido desde el diagnóstico hasta el fallecimiento de la paciente.

Además, se ha recogido la tasa de inclusión en estudios clínicos con inhibidores de los FGFR así como resultados relevantes derivados de los mismos (toxicidad y eficacia). La toxicidad se ha evaluado en función de los criterios terminológicos comunes de acontecimientos adversos (CTCAE, del inglés *Common Terminology Criteria for Adverse Events*) versiones 3.0 y 4.0 [193, 194], mientras que la eficacia se ha analizado siguiendo los criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos (RECIST, del inglés *Response Evaluation Criteria In Solid Tumors*) versiones 1.0 y 1.1 [195, 196].

También se han recogido datos relacionados con la estadificación tumoral en el momento del diagnóstico y las pacientes se han agrupado en función del tamaño tumoral (tumores T1-2 *versus* T3-4), de la afectación ganglionar (ganglios negativos *versus* ganglios positivos) y de si comenzaron o no con enfermedad metastásica. Las pacientes fueron inicialmente evaluadas mediante la realización de una historia clínica detallada, una exploración física completa y la solicitud de una analítica general con hemograma, creatinina y pruebas de función hepática. Los métodos diagnósticos y de estadificación por imagen incluyeron ecografía axilar, tomografía axial computarizada de tórax y de abdomen y gammagrafía ósea con 99mTc. En aquellos casos en los que, con las pruebas de estadificación mencionadas, existían dudas sobre la presencia o no de enfermedad a distancia, se realizaron otras pruebas complementarias específicas, como PET, o incluso la confirmación histológica de las lesiones sospechosas.

En cuanto a las características patológicas, se han recogido datos sobre el subtipo histológico, el estado de los receptores hormonales, considerando positivos para RE o RP a aquellos tumores con tinción de tan solo un 1% de los núcleos de las células tumorales, el estado del HER2 utilizando las recomendaciones del año 2007 de la ASCO/CAP y el valor del índice proliferativo Ki67, tomando como base un *cut-off* del 20% [17, 23, 197].

Por último, se ha clasificado a las pacientes en función del subtipo molecular determinado mediante un perfil inmunohistoquímico. La definición por inmunohistoquímica de los diferentes subtipos moleculares se ha realizado según el estado del RE, del RP, del HER2 y del valor del índice proliferativo Ki67. En función de estas características se han definido cinco subtipos moleculares:

- Luminal A: RE y/o RP positivos, HER2-negativo, Ki67 \leq 20%.
- Luminal B: RE y/o RP positivos, HER2-negativo, Ki67 > 20%.

- HER2-positivo no luminal: receptores hormonales negativos, HER2-positivo.
- Luminal HER2-positivo: RE y/o RP positivos, HER2-positivo.
- Basal: receptores hormonales negativos, HER2-negativo.

Asimismo, se ha establecido una definición agrupada del subtipo molecular sin tener en cuenta del valor de Ki67, y considerando tumores HER2-positivos a aquellos que expresaban el HER2, independientemente del estado de los receptores hormonales:

- Luminal: RE y/o RP positivos, HER2-negativo.
- HER2-positivo: receptores hormonales positivos o negativos, HER2-positivo.
- Basal: receptores hormonales negativos, HER2-negativo.

7.5. Análisis adicional de otras alteraciones moleculares

El análisis molecular se ha llevado a cabo mediante Sequenom MassARRAY®, utilizando la OncoCarta versión 1.0, y mediante Amplicon-Seq, una plataforma de NGS, usando una OncoCarta realizada por el Instituto de Oncología Vall d'Hebron (VHIO, del inglés Vall d'Hebron Institute of Oncology), la VHIO-Card versión 1.0 [198, 199]. Con ambos métodos se pueden analizar mutaciones *hotspots* bien establecidas en múltiples genes.

La OncoCarta versión 1.0 analiza 238 mutaciones en 19 genes. Además, junto con esta OncoCarta se ha utilizado un panel propio generado en nuestro centro que ha permitido ampliar la detección a 288 mutaciones localizadas en 24 oncogenes.

Por el contrario, la VHIO-Card versión 1.0 es capaz de analizar un mayor número de mutaciones, hasta más de 50.000 posiciones en el genoma en 59 oncogenes y supresores tumorales.

7.6. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se ha utilizado el programa informático SPSS® versión 15.0 para Windows, y se ha considerado estadísticamente significativo un valor de p inferior a 0,05.

7.6.1. Estadística descriptiva y análisis univariante de las variables cualitativas

El análisis descriptivo se ha realizado mediante promedios y porcentajes. El test de chi-cuadrado se ha usado para establecer la correlación entre el estado de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* con diferentes características clínico-patológicas recogidas como variables cualitativas si las frecuencias esperadas en todas las casillas no eran inferiores a cinco, y mediante la prueba exacta de Fisher en caso contrario. Para variables policotómicas se ha utilizado solamente la prueba de chi-cuadrado.

7.6.2. Estadística descriptiva y análisis univariante de las variables cuantitativas

La edad ha sido la única variable cuantitativa incluida en el análisis estadístico, y se ha evaluado su normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilks cuando el tamaño muestral era menor de cincuenta y por la prueba de Kolmogorov-Smirnov con la corrección de Lilliefors si el tamaño muestral era mayor de cincuenta; se presenta como media (+/- desviación típica) en el caso de que siguiera una distribución normal o como mediana (amplitud intercuartil, que se define como el intervalo formado por los percentiles 25 y 75) en el caso contrario. Al seguir una distribución normal, se ha utilizado el test de t de Student para establecer la correlación entre el estado de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* con la edad, y el test ANOVA de un factor para evaluar la correlación entre el estado de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2*, categorizando a las pacientes no amplificadas en función de la presencia o no de la polisomía del gen, con la edad.

7.6.3. Análisis de variables pronósticas

Se ha realizado el análisis de la supervivencia libre de enfermedad, de la supervivencia global y del tiempo libre de progresión de la primera línea de tratamiento con hormonoterapia mediante las curvas de Kaplan-Meier, y se ha empleado el test de *log-rank* para las comparaciones. Para el análisis de la supervivencia global y de la

supervivencia libre de enfermedad se han excluido a las pacientes con enfermedad metastásica de inicio.

Para examinar los factores relacionados con la supervivencia libre de enfermedad y con la supervivencia global se ha llevado a cabo inicialmente un análisis univariante. En el análisis univariante de supervivencia libre de enfermedad se han incluido las siguientes variables: la edad (< 50 años *versus* 50-65 años *versus* > 65 años), el grado histológico (1/2 *versus* 3), el estado ganglionar (ganglios negativos *versus* ganglios positivos), el tamaño tumoral (T1/2 *versus* T3/4) y el subtipo molecular (luminal *versus* basal *versus* HER2-positivo). En el análisis univariante de supervivencia global se han incluido las variables procedentes del modelo pronóstico desarrollado a partir del estudio clínico ATHENA (un estudio que tuvo como objetivo evaluar la seguridad de una primera línea de quimioterapia en combinación con bevacizumab en pacientes con cáncer de mama metastásico), que son: el intervalo libre de enfermedad (mayor de 24 meses *versus* menor o igual a 24 meses), la localización y el número de metástasis a distancia (ausencia de metástasis hepáticas y menos de tres localizaciones metastásicas *versus* presencia de metástasis hepáticas o mayor o igual a tres localizaciones metastásicas), el tratamiento de quimioterapia (neo)adyuvante previamente recibido (otros tratamientos *versus* antraciclinas y taxanos) y el subtipo molecular (luminal *versus* basal *versus* HER2-positivo) [200]. Cabe señalar que el estudio clínico ATHENA no incluyó a pacientes con cáncer de mama HER2-positivo. No obstante, dado su conocido papel pronóstico, estas pacientes sí se han considerado en el presente trabajo. Además, junto a las variables del estudio clínico ATHENA se han incluido la edad (< 50 años *versus* 50-65 años *versus* > 65 años) y el estado general de las pacientes medido por la escala del Grupo Cooperativo de Oncología del Este (ECOG, del inglés Eastern Cooperative Oncologic Group) (cero *versus* uno). Finalmente, y como parte de los objetivos de este trabajo, también se han incluido el estado del *FGFR1* y del *FGFR2* (no amplificado *versus* amplificado) y el estado de la polisomía de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* excluyendo a las pacientes amplificadas (no polisómico *versus* polisómico) tanto en el análisis univariante de supervivencia libre de enfermedad como en el de supervivencia global.

Posteriormente, las variables que han resultado estadísticamente significativas en el análisis univariante se han incluido en el modelo multivariante de riesgos proporcionales de Cox, junto con las variables que aun no presentando significación estadística en el análisis univariante son susceptibles de producir interacciones de interés clínico como el estado del *FGFR1* y del *FGFR2*.

El estado de la polisomía de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* no se ha incluido como variable en el modelo multivariante, ya que excluye a las pacientes amplificadas. Sin embargo, sí se ha evaluado de manera exploratoria tanto en los análisis univariante como multivariante de supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global el impacto pronóstico de la presencia de alteraciones a nivel del *FGFR*, que incluye la amplificación y/o la polisomía del gen sin amplificación del mismo de los genes del *FGFR1* y/o del *FGFR2*, así como la presencia de alteraciones a nivel del gen del *FGFR1* y a nivel del gen del *FGFR2* por separado.

8. Resultados

8.1. Características basales de la población global del estudio

En el trabajo se han incluido 205 pacientes con cáncer de mama metastásico a las que se les ha analizado el estado de la amplificación de los genes del *FGFR1* y/o del *FGFR2* durante el periodo de tiempo comprendido entre los años 2010 y 2014.

La media de edad de las 205 pacientes incluidas en el trabajo fue de 48,9 años (rango 23-82, desviación típica 11,2); de ellas, el 59% eran premenopáusicas y el 41% posmenopáusicas. El subtipo histológico más frecuente fue el carcinoma ductal infiltrante, que representaba el 86,3% del total. En cuanto a la estadificación inicial, un 63,9% de las pacientes comenzaron con tumores con afectación ganglionar (el 74,4% si se excluyen las pacientes en las que no se realizó esta determinación), un 58% de los tumores eran T1-2 (68,5% si se excluyen las pacientes en las que no se realizó esta determinación), un 26,8% de los tumores eran T3-4 (el 31,5% si se excluyen las pacientes en las que no se realizó esta determinación) y un 23,4% de las pacientes incluidas comenzaron con enfermedad metastásica en el momento del diagnóstico. La determinación del grado histológico fue de grado 1 en 13 pacientes (6,3%), de grado 2 en 108 pacientes (52,7%) y de grado 3 en 52 pacientes (25,4%). Si consideramos exclusivamente a las pacientes a las que se le analizó el grado histológico, el 7,5%, el 62,4% y el 30,1% de los tumores fueron de grado 1, 2 y 3, respectivamente. Con respecto a la expresión por parte del tumor de los receptores hormonales y del HER2, un 81,5% tenían positividad para el RE, un 66,3% para el RP y un 13,7% de las pacientes presentaban tumores HER2-positivos. Los tumores de un 84,4% de las pacientes expresaban el RE y/o el RP. Entre las 114 pacientes a las que se analizó el valor del índice proliferativo Ki67 (55,6% del total), 63 (55,3%) presentaban un valor de Ki67 mayor del 20% y las restantes (44,7%) tenían un valor menor o igual al 20%. En cuanto al subtipo molecular, hubo 60 pacientes con tumores luminales en las que no se pudo determinar por desconocer el valor de Ki67. Así, con respecto al total de pacientes incluidas en el estudio, el 23,4%, el 21%, el 12,7%, el 10,7% y el 2,9% fueron tumores luminal A, luminal B, basal, luminal HER2-positivo y HER2-positivo no luminal, respectivamente; el 73,7%, el 13,6% y el 12,7% agrupándolos en los subgrupos luminal, HER2-positivo y basal. La **tabla 6** resume las características clínico-patológicas del global de la población.

Tabla 6
Características clínico-patológicas de la población global

Variable	Número de pacientes (%) Total (n = 205)
Edad media, años (rango)	48,9 (23-82)
Estado menopáusico	
Premenopáusica	121 (59,0%)
Posmenopáusica	84 (41,0%)
Estado <i>FGFR1</i> global	
Amplificado	47 (22,9%)
No amplificado	158 (77,1%)
Estado <i>FGFR2</i> global	
Amplificado	3 (1,5%)
No amplificado	64 (31,2%)
No determinado	138 (67,3%)
Subtipo histológico	
CDI	177 (86,3%)
CLI	14 (6,8%)
Otros	14 (6,9%)
Grado histológico	
1	13 (6,3%)
2	108 (52,7%)
3	52 (25,4%)
No determinado	32 (15,6%)
Tamaño	
T1-2	119 (58,0%)
T3-4	55 (26,8%)
No determinado	31 (15,2%)
Estado ganglionar	
Ganglios negativos	45 (22,0%)
Ganglios positivos	131 (63,9%)
No determinado	29 (14,1%)
Localización M1	
Ósea exclusiva	60 (29,3%)
No visceral	32 (15,6%)
Visceral	105 (51,2%)
No determinado	8 (3,9%)
Estado del RE	
Positivos	167 (81,5%)
Negativos	38 (18,5%)
Estado del RP	
Positivos	136 (66,3%)
Negativos	69 (33,7%)
Estado de RH	
Positivos	173 (84,4%)
Negativos	32 (15,6%)
Estado del HER2	
Positivo	28 (13,7%)
Negativo	177 (86,3%)
Índice proliferativo	
≤ 20%	51 (24,9%)
> 20%	63 (30,7%)
No determinado	91 (44,4%)
Subtipo molecular	
Luminal A	43 (21,0%)
Luminal B	48 (23,4%)
HER2-positivo no luminal	6 (2,9%)
Luminal HER2-positivo	22 (10,7%)
Basal	26 (12,7%)
No determinado	60 (29,3%)
Subtipo molecular agrupado	
Basal	26 (12,7%)
Luminal	151 (73,7%)
HER2-positivo (luminal/no luminal)	28 (13,6%)

CDI: carcinoma ductal infiltrante; CLI: carcinoma lobulillar infiltrante; FGFR: receptor del factor de crecimiento fibroblástico; M1: metástasis a distancia RE: receptor de estrógeno; RH: receptores hormonales; RP: receptor de progesterona.

8.2. Incidencia de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* en nuestra población de pacientes con cáncer de mama metastásico

Se determinó el estado de la amplificación del gen del *FGFR1* en todas las pacientes incluidas en el estudio, 221 muestras en total, ya que en dieciséis pacientes se evaluó el estado de la amplificación tanto en el tumor primario como en la localización metastásica. La incidencia de amplificación del gen del *FGFR1* fue del 22,9% (47/205), considerando también como pacientes *FGFR1* amplificadas a dos pacientes con resultados discordantes en muestras pareadas procedentes del tumor primario y de la localización metastásica. Por subtipos moleculares, el 18,6%, el 22,9%, el 23,1%, el 13,6% y el 16,7% de los tumores con subtipo luminal A, luminal B, basal, luminal HER2-positivo y HER2-positivo no luminal fueron *FGFR1* amplificadas, respectivamente; el 24,5% (37/151), el 23,1% (6/26) y el 14,3% (4/28) agrupándolos en los subgrupos luminal, basal y HER2-positivo.

El estado de la amplificación del gen del *FGFR1* se determinó con mayor frecuencia en las muestras procedentes de la biopsia del tumor primario por la ausencia de material de la localización metastásica (71,9% *versus* 28,1%).

En cuanto al estado de la amplificación del gen del *FGFR2*, se analizó en 67 pacientes incluidas en el estudio (32,7% del total), 80 muestras en total, ya que también se determinó el estado de la amplificación en 13 pacientes en muestras pareadas. La incidencia de amplificación del gen del *FGFR2* fue del 4,5% (3/67). Por subtipos moleculares, el 5,6% (1/19) y el 25% (2/8) de los tumores con subtipo luminal A y basal fueron *FGFR2* amplificadas, respectivamente. No se detectó ningún tumor luminal B ni HER2-positivo con amplificación del gen del *FGFR2*.

Al igual que con la amplificación del gen del *FGFR1*, el estado del gen del *FGFR2* se evaluó principalmente en las muestras procedentes de la biopsia del tumor primario (76,2% *versus* 23,8%). En la **tabla 7** se encuentran resumidos estos resultados.

Tabla 7

Incidencia de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2*

	Tumor primario	Localización metastásica
Muestras analizadas^a	159/205 (77,6%)	62/205 (30,2%)
<i>FGFR1</i> no amplificadas	127 (79,9%)	40 (64,5%)
<i>FGFR1</i> amplificadas	32 (20,1%)	22 (35,5%)
Muestras analizadas^b	61/205 (29,75%)	19/205 (9,3%)
<i>FGFR2</i> no amplificadas	58 (95,1%)	17 (89,5%)
<i>FGFR2</i> amplificadas	3 (4,9%)	2 (10,5%)

FGFR: Receptor del factor de crecimiento fibroblástico.

^a El total de las muestras analizadas es de 221; hay 16 pacientes con muestras pareadas.

^b El total de las muestras analizadas es de 80; hay 13 pacientes con muestras pareadas.

8.3. Concordancia entre el estado de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2*

De las 205 pacientes a las que se analizó el estado de la amplificación del gen del *FGFR1* también se determinó el estado de la amplificación del gen del *FGFR2* en 67 pacientes (32,7% del total). A 10 de las 47 pacientes *FGFR1* amplificadas (21,3%) se les analizó el estado de la amplificación del gen del *FGFR2* y solamente una paciente presentó de forma concomitante amplificación del gen del *FGFR2* (10%). En cuanto a las 158 pacientes *FGFR1* no amplificadas, el estado de la amplificación del gen del *FGFR2* se determinó en 57 pacientes (36,1%), dos de las cuales presentaron amplificación del gen del *FGFR2* (3,5%). En la **tabla 8** quedan recogidos estos resultados.

Tabla 8

Concordancia entre el estado de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2*

Estado <i>FGFR</i>	<i>FGFR2</i> amplificado	<i>FGFR2</i> no amplificado	<i>FGFR2</i> no determinado	p
<i>FGFR1</i> amplificado	1	9	37	0,389
<i>FGFR1</i> no amplificado	2	55	101	

FGFR: receptor del factor de crecimiento fibroblástico.

8.4. Correlación entre la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* con las características clínico-patológicas

Con respecto a las 47 pacientes *FGFR1* amplificadas, la media de edad fue de 44,6 años (rango 26-61, desviación típica 8,5), de las cuales el 74,5% eran premenopáusicas y el 25,5% posmenopáusicas.

El subtipo histológico más frecuente fue el carcinoma ductal infiltrante, que representaba el 84,2% del total. En cuanto a la estadificación inicial, un 61,7% de las pacientes comenzaron con tumores con afectación ganglionar (el 74,3% si se excluyen las pacientes en las que no se realizó esta determinación), un 61,7% de los tumores eran T1-2 (el 76,3% si se excluyen las pacientes en las que no se realizó esta determinación), un 19,1% de los tumores eran T3-4 (el 23,7% si se excluyen las pacientes en las que no se realizó esta determinación) y un 23,4% de las pacientes incluidas comenzaron con enfermedad metastásica en el momento del diagnóstico. La determinación del grado histológico fue de grado 1 en cuatro pacientes (8,5%), de grado 2 en dieciocho pacientes (38,3%) y de grado 3 en quince pacientes (31,9%). Si consideramos exclusivamente a las pacientes a las que se le analizó el grado histológico, el 10,8%, el 48,6% y el 40,6% de los tumores fueron de grado 1, 2 y 3, respectivamente. Con respecto a la expresión por parte del tumor de los receptores hormonales y del HER2, un 83% tenían positividad para el RE, un 68,1% para el RP y un 8,5% de las pacientes presentaban tumores HER2-positivos. Los tumores de un 85,1% de las pacientes expresaban el RE y/o el RP. Entre las veinticinco pacientes a las que se analizó el valor del índice proliferativo Ki67 (53,1% del total), dieciséis presentaban un Ki67 mayor del 20% (64%) y las restantes (36%) tenían un valor menor o igual al 20%. En cuanto al subtipo molecular, hubo dieciocho pacientes en las que no se pudo determinar por desconocer el valor de Ki67. Así, con respecto al total de pacientes incluidas en el estudio, el 17%, el 23,4%, el 12,8%, el 6,4% y el 2,1% fueron tumores luminal A, luminal B, basal, luminal HER2-positivo y HER2-positivo no luminal, respectivamente; el 78,7%, el 8,5% y el 12,8% agrupándolos en los subgrupos luminal, HER2-positivo y basal.

No se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre las pacientes con o sin amplificación del gen del *FGFR1* con respecto a la mayor parte de las características clínico-patológicas evaluadas, excepto en cuanto a la edad ($p = 0,003$) y el estado menopáusico; con mayor frecuencia las pacientes *FGFR1* amplificadas eran

premenopáusicas ($p = 0,037$). La edad media de las pacientes con amplificación del gen del *FGFR1* fue de 44,6 años y de 50,2 años para las pacientes no amplificadas. Estos datos se encuentran resumidos en la **tabla 9**.

En relación a las tres pacientes a las que se les detectó amplificación del gen del *FGFR2*, presentaron con respecto a las pacientes no amplificadas una mayor frecuencia de negatividad del RP y del RE y una mayor asociación con el subtipo basal. No hubo diferencias en el resto de los parámetros evaluados. La **tabla 10** recoge las características clínico-patológicas de las pacientes en función del estado de la amplificación del gen del *FGFR2*.

Tabla 9

Características clínico-patológicas de pacientes *FGFR1* amplificadas y no amplificadas

Variable	<i>FGFR1</i> no amplificadas (n = 158)	<i>FGFR1</i> amplificadas (n = 47)	p
	Número de pacientes (%)	Número de pacientes (%)	
Edad media, años (rango)	50,2 (23-82)	44,6 (26-61)	0,003
Estado menopáusico			0,037
Premenopáusica	86 (54,4%)	35 (74,5%)	
Posmenopáusica	72 (45,6%)	12 (25,5%)	
Subtipo histológico			0,230
CDI	133 (84,2%)	44 (93,6%)	
CLI	13 (8,2%)	1 (2,1%)	
Otros	12 (7,6%)	2 (4,3%)	
Grado histológico			0,162
1	9 (5,7%)	4 (8,5%)	
2	90 (57,0%)	18 (38,3%)	
3	37 (23,4%)	15 (31,9%)	
No determinado	22 (13,9%)	10 (21,3%)	
Tamaño			0,344
T1-2	90 (57,0%)	29 (61,7%)	
T3-4	46 (29,1%)	9 (19,1%)	
No determinado	22 (13,9%)	9 (19,2%)	
Estado ganglionar			0,813
Ganglios negativos	35 (22,2%)	10 (21,3%)	
Ganglios positivos	102 (64,6%)	29 (61,7%)	
No determinado	21 (13,2%)	8 (17,0%)	
Localización M1			0,711
Ósea exclusiva	47 (29,7%)	13 (27,7%)	
No visceral	26 (16,5%)	6 (12,8%)	
Visceral	80 (50,6%)	25 (53,2%)	
No determinado	5 (3,2%)	3 (6,3%)	
Estado de RH			0,878
Positivos	133 (84,2%)	40 (85,1%)	
Negativos	25 (15,8%)	7 (14,9%)	
Estado del RE			0,761
Positivo	128 (81,0%)	39 (83,0%)	
Negativo	30 (19,0%)	8 (17,0%)	
Estado del RP			0,773
Positivo	104 (65,8%)	32 (68,1%)	
Negativo	54 (34,2%)	15 (31,9%)	
Estado del HER2			0,178
Positivo	24 (15,2%)	4 (8,5%)	
Negativo	134 (84,8%)	43 (91,5%)	
Índice proliferativo Ki67			0,576
≤ 20%	42 (26,6%)	9 (19,1%)	
> 20%	47 (29,7%)	16 (34,0%)	
No determinado	69 (43,7%)	22 (46,9%)	
Subtipo molecular			0,644
Luminal A	35 (22,2%)	8 (17,0%)	
Luminal B	37 (23,4%)	11 (23,4%)	
HER2-positivo no luminal	5 (3,2%)	1 (2,1%)	
Luminal HER2-positivo	19 (12,0%)	3 (6,4%)	
Basal	20 (12,7%)	6 (12,8%)	
No determinado	42 (26,5%)	18 (38,3%)	
Subtipo molecular agrupado			0,498
Basal	20 (12,7%)	6 (12,8%)	
Luminal	114 (72,2%)	37 (78,7%)	
HER2-positivo (luminal/no luminal)	24 (15,2%)	4 (8,5%)	

CDI: carcinoma ductal infiltrante; CLI: carcinoma lobulillar infiltrante; FGFR: receptor del factor de crecimiento fibroblástico; M1: metástasis a distancia; RH: receptores hormonales; RE: receptor de estrógeno; RP: receptor de progesterona.

Tabla 10

Características clínico-patológicas de pacientes *FGFR2* amplificadas y no amplificadas

Variable	FGFR2 no amplificadas (n = 64)	FGFR2 amplificadas (n = 3)
	Número de pacientes (%)	Número de pacientes (%)
Edad media, años (rango)	50,5 (26-77)	44 (37-51)
Estado menopáusico		
Premenopáusica	36 (56,3%)	3 (100%)
Posmenopáusica	28 (43,7%)	0 (0,0%)
Subtipo histológico		
CDI	56 (87,5%)	3 (100%)
CLI	4 (6,3%)	0 (0,0%)
Otros	4 (6,2%)	0 (0,0%)
Grado histológico		
1	4 (6,3%)	0 (0,0%)
2	30 (46,9%)	1 (33,3%)
3	18 (8,1%)	2 (63,7%)
No determinado	12 (18,7%)	0 (0,0%)
Tamaño		
T1-2	34 (53,1%)	3 (100%)
T3-4	17 (26,6%)	0 (0,0%)
No determinado	13 (20,3%)	0 (0,0%)
Estado ganglionar		
Ganglios negativos	12 (18,8%)	1 (33,3%)
Ganglios positivos	39 (60,9%)	2 (66,7%)
No determinado	13 (20,3%)	0 (0,0%)
Localización M1		
Ósea exclusiva	23 (35,9%)	0 (0,0%)
No visceral	9 (14,1%)	1 (33,3%)
Visceral	30 (46,9%)	2 (66,7%)
No determinado	2 (3,1%)	0 (0,0%)
Estado de RH		
Positivos	56 (87,5%)	1 (33,3%)
Negativos	8 (12,5%)	2 (66,7%)
Estado del RE		
Positivo	54 (84,4%)	1 (33,3%)
Negativo	10 (15,6%)	2 (63,7%)
Estado del RP		
Positivo	45 (70,3%)	0 (0,0%)
Negativo	19 (29,7%)	3 (100%)
Estado del HER2		
Positivo	11 (17,2%)	0 (0,0%)
Negativo	53 (82,8%)	3 (100%)
Índice proliferativo Ki67		
≤ 20%	21 (32,8%)	1 (33,3%)
> 20%	25 (39,1%)	2 (66,7%)
No determinado	18 (28,1%)	0 (0,0%)
Subtipo molecular		
Luminal A	18 (28,1%)	1 (33,3%)
Luminal B	19 (29,7%)	0 (0,0%)
HER2-positivo no luminal	2 (3,1%)	0 (0,0%)
Luminal HER2-positivo	9 (14,1%)	0 (0,0%)
Basal	6 (9,4%)	2 (66,7%)
No determinado	10 (15,6%)	0 (0,0%)
Subtipo molecular agrupado		
Basal	6 (9,4%)	2 (66,7%)
Luminal	47 (73,4%)	1 (33,3%)
HER2-positivo (luminal/no luminal)	11 (17,2%)	0 (0,0%)

CDI: carcinoma ductal infiltrante; CLI: carcinoma lobulillar infiltrante; FGFR: receptor del factor de crecimiento fibroblástico; M1: metástasis a distancia; RH: receptores hormonales; RE: receptor de estrógeno; RP: receptor de progesterona.

8.5. Incidencia de la polisomía de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* en ausencia de amplificación de ambos genes y su correlación con las características clínico-patológicas

De las 205 pacientes a las que se determinó el estado de la amplificación del gen del *FGFR1* se identificaron veintiocho pacientes *FGFR1* no amplificadas polisómicas (13,7%). A trece de estas veintiocho pacientes también se les analizó el estado de la amplificación del gen del *FGFR2*, que fue negativo no polisómico en siete pacientes (53,8%), en cinco pacientes negativo polisómico (38,5%) y en una paciente amplificado (7,7%). No se observaron diferencias significativas en cuanto a la mayor parte de las características clínico-patológicas evaluadas entre las pacientes *FGFR1* amplificadas, *FGFR1* no amplificadas no polisómicas y *FGFR1* no amplificadas polisómicas exceptuando la edad ($p = 0,010$). Estos datos se encuentran resumidos en la **tabla 11**.

Al comparar por separado las pacientes *FGFR1* no amplificadas polisómicas con las pacientes *FGFR1* amplificadas se observaron diferencias en la edad ($p = 0,004$) y en el estado menopáusico, y con mayor frecuencia las pacientes *FGFR1* amplificadas fueron premenopáusicas ($p = 0,031$). Por el contrario, no se observaron diferencias en ninguna de las variables evaluadas al comparar las pacientes *FGFR1* no amplificadas polisómicas con las pacientes *FGFR1* no amplificadas no polisómicas.

De las 67 pacientes a las que se le determinó el estado de la amplificación del gen del *FGFR2* se identificaron doce pacientes *FGFR2* no amplificadas polisómicas (17.9%). En todas estas pacientes se analizó el estado de la amplificación del gen del *FGFR1*, que en cinco pacientes fue negativo no polisómico (41.7%), en cinco pacientes negativo polisómico (41,7%) y en dos pacientes amplificado (16.6%). Se observaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al estado del RE ($p = 0,009$), el estado del RP ($p = 0,001$), el valor de Ki67 ($p = 0,014$) y el subtipo molecular ($p = 0,002$) entre las pacientes *FGFR2* amplificadas, *FGFR2* no amplificadas no polisómicas y *FGFR2* no amplificadas polisómicas. Estos datos se encuentran recogidos en la **tabla 12**.

Tabla 11

Características clínico-patológicas de pacientes *FGFR1* no amplificadas polisómicas

Variable	<i>FGFR1</i> no amplificadas polisómicas (n = 28)	<i>FGFR1</i> amplificadas (n = 47)	<i>FGFR1</i> no amplificadas no polisómicas (n = 130)	p
	Número de pacientes (%)	Número de pacientes (%)	Número de pacientes (%)	
Edad media, años (rango)	51,0 (36-73)	44,6 (26-61)	50,0 (23-82)	0,010
Estado menopáusico				0,113
Premenopáusica	16 (57,1%)	35 (74,5%)	75 (57,7%)	
Postmenopáusica	12 (42,9%)	12 (25,5%)	55 (42,3%)	
Subtipo histológico				0,275
CDI	26 (92,9%)	44 (93,6%)	107 (82,3%)	
CLI	1 (3,6%)	1 (2,1%)	12 (9,2%)	
Otros	11 (3,5%)	2 (4,3%)	11 (8,5%)	
Grado histológico				0,321
1	0 (0,0%)	4 (8,5%)	9 (6,9%)	
2	17 (60,7%)	18 (38,3%)	73 (56,2%)	
3	7 (25,0%)	15 (31,9%)	30 (23,1%)	
No determinado	4 (14,3%)	10 (21,3%)	18 (13,8%)	
Tamaño				0,278
T1-2	17 (60,7%)	29 (61,7%)	73 (56,2%)	
T3-4	5 (17,9%)	9 (19,1%)	41 (31,5%)	
No determinado	6 (21,4%)	9 (19,2%)	16 (12,3%)	
Estado ganglionar				0,257
Ganglios negativos	9 (32,1%)	10 (21,3%)	26 (20,0%)	
Ganglios positivos	13 (46,4%)	29 (61,7%)	89 (68,5%)	
No determinado	6 (21,5%)	8 (17,0%)	15 (11,5%)	
Localización M1				0,883
Ósea exclusiva	8 (28,6%)	13 (27,7%)	39 (30,0%)	
No visceral	5 (17,9%)	6 (12,8%)	21 (16,2%)	
Visceral	15 (53,5%)	25 (53,2%)	65 (50,0%)	
No determinado	0 (0,0%)	3 (6,3%)	5 (3,8%)	
Estado de RH				0,937
Positivos	23 (82,1%)	40 (85,1%)	110 (84,6%)	
Negativos	5 (17,9%)	7 (14,9%)	20 (15,4%)	
Estado del RE				0,941
Positivo	23 (82,1%)	39 (83,0%)	105 (80,8%)	
Negativo	5 (17,9%)	8 (17,0%)	25 (19,2%)	
Estado del RP				0,930
Positivo	19 (67,9%)	32 (68,1%)	85 (65,4%)	
Negativo	9 (32,1%)	15 (31,9%)	45 (34,6%)	
Estado del HER2				0,287
Positivo	6 (21,4%)	4 (8,5%)	18 (13,8%)	
Negativo	22 (78,6%)	43 (91,5%)	112 (86,2%)	
Índice proliferativo Ki67				0,811
≤ 20%	6 (21,4%)	9 (19,1%)	36 (27,7%)	
> 20%	9 (32,1%)	16 (34,0%)	38 (29,2%)	
No determinado	13 (46,4%)	22 (46,9%)	56 (43,1%)	
Subtipo molecular				0,736
Luminal A	4 (14,3%)	8 (17,0%)	31 (23,8%)	
Luminal B	6 (21,4%)	11 (23,4%)	31 (23,8%)	
HER2-positivo no luminal	2 (7,1%)	1 (2,1%)	3 (2,3%)	
Luminal HER2-positivo	4 (14,3%)	3 (6,4%)	15 (11,5%)	
Basal	3 (10,7%)	6 (12,8%)	17 (13,1%)	
No determinado	9 (32,2%)	60 (29,3%)	33 (25,5%)	
Subtipo molecular agrupado				0,635
Basal	3 (10,7%)	6 (12,8%)	17 (13,1%)	
Luminal	19 (67,9%)	37 (78,7%)	95 (73,1%)	
HER2-positivo (luminal/no luminal)	6 (21,4%)	4 (8,5%)	18 (13,8%)	

CDI: carcinoma ductal infiltrante; CLI: carcinoma lobulillar infiltrante; FGFR: receptor del factor de crecimiento fibroblástico; M1: metástasis a distancia; RH: receptores hormonales; RE: receptor de estrógeno; RP: receptor de progesterona.

Tabla 12

Características clínico-patológicas de pacientes *FGFR2* no amplificadas polisómicas

Variable	<i>FGFR2</i> no amplificadas polisómicas (n = 12)	<i>FGFR2</i> amplificadas (n = 3)	<i>FGFR2</i> no amplificadas no polisómicas (n = 52)	p
	Número de pacientes (%)	Número de pacientes (%)	Número de pacientes (%)	
Edad media, años (rango)	53,3 (37-72)	44 (37-51)	49,8 (26-77)	0,380
Estado menopáusico				0,448
Premenopáusica	6 (50,0%)	3 (100%)	33 (63,5%)	
Posmenopáusica	6 (50,0%)	0 (0,0%)	19 (36,5%)	
Subtipo histológico				0,766
CDI	9 (75,0%)	3 (100%)	47 (90,4%)	
CLI	1 (8,3%)	0 (0,0%)	3 (5,8%)	
Otros	2 (16,7%)	0 (0,0%)	2 (3,8%)	
Grado histológico				0,445
1	2 (16,7%)	0 (0,0%)	2 (3,8%)	
2	3 (25,0%)	1 (33,3%)	27 (51,9%)	
3	4 (33,3%)	2 (63,7%)	14 (26,9%)	
No determinado	3 (25,0%)	0 (0,0%)	9 (17,1%)	
Tamaño				0,418
T1-2	5 (41,7%)	3 (100%)	29 (55,8%)	
T3-4	3 (25,0%)	0 (0,0%)	14 (26,9%)	
No determinado	4 (33,3%)	0 (0,0%)	9 (17,3%)	
Estado ganglionar				0,643
Ganglios negativos	3 (25,0%)	1 (33,3%)	9 (17,3%)	
Ganglios positivos	6 (50,0%)	2 (66,7%)	33 (63,5%)	
No determinado	3 (25,0%)	0 (0,0%)	10 (19,2%)	
Localización M1				0,301
Ósea exclusiva	2 (16,7%)	0 (0,0%)	21 (40,4%)	
No visceral	0 (0,0%)	1 (33,3%)	9 (17,3%)	
Visceral	9 (75,0%)	2 (66,7%)	21 (40,4%)	
No determinado	1 (8,3%)	0 (0,0%)	1 (1,9%)	
Estado de RH				0,001
Positivos	7 (58,3%)	1 (33,3%)	49 (94,2%)	
Negativos	5 (41,7%)	2 (66,7%)	3 (5,8%)	
Estado del RE				0,009
Positivo	7 (58,3%)	1 (33,3%)	47 (90,4%)	
Negativo	5 (41,7%)	2 (63,7%)	5 (9,6%)	
Estado del RP				0,001
Positivo	4 (33,3%)	0 (0,0%)	41 (78,8%)	
Negativo	8 (66,7%)	3 (100%)	11 (21,2%)	
Estado del HER2				0,714
Positivo	2 (16,7%)	0 (0,0%)	9 (17,3%)	
Negativo	10 (83,3%)	3 (100%)	43 (82,7%)	
Índice proliferativo Ki67				0,014
≤ 20%	6 (50,0%)	1 (33,3%)	15 (28,8%)	
> 20%	4 (33,3%)	2 (66,7%)	21 (40,4%)	
No determinado	2 (16,7%)	0 (0,0%)	16 (30,8%)	
Subtipo molecular				0,002
Luminal A	4 (33,3%)	1 (33,3%)	14 (26,9%)	
Luminal B	0 (0,0%)	0 (0,0%)	19 (36,5%)	
HER2-positivo no luminal	1 (8,3%)	0 (0,0%)	1 (1,9%)	
Luminal HER2-positivo	1 (8,3%)	0 (0,0%)	8 (15,4%)	
Basal	4 (33,3%)	2 (66,7%)	2 (3,8%)	
No determinado	2 (16,7%)	0 (0,0%)	8 (15,4%)	
Subtipo molecular agrupado				0,009
Basal	4 (33,3%)	2 (66,7%)	2 (7,7%)	
Luminal	6 (50,0%)	1 (33,3%)	41 (78,8%)	
HER2-positivo (luminal/no luminal)	2 (16,7%)	0 (0,0%)	9 (17,3%)	

CDI: carcinoma ductal infiltrante; CLI: carcinoma lobulillar infiltrante; FGFR: receptor del factor de crecimiento fibroblástico; M1: metástasis a distancia; RH: receptores hormonales; RE: receptor de estrógeno; RP: receptor de progesterona.

Al comparar por separado las pacientes *FGFR2* no amplificadas polisómicas con las pacientes *FGFR2* amplificadas no se observaron diferencias en ninguna de las variables clínico-patológicas evaluadas. Por el contrario, al comparar las pacientes *FGFR2* no amplificadas polisómicas con las pacientes *FGFR2* no amplificadas no polisómicas se observaron diferencias en el estado del RE ($p = 0,006$), el estado del RP ($p = 0,002$), el estado de los receptores hormonales ($p = 0,001$) y el subtipo molecular ($p = 0,006$), y con mayor frecuencia las pacientes *FGFR2* no amplificadas polisómicas mostraron negatividad del RP y del RE y una mayor asociación con el subtipo basal.

8.6. Impacto pronóstico del estado del *FGFR1* y del *FGFR2*, del estado de la polisomía de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* y de la presencia de alteraciones a nivel del *FGFR*, a nivel del gen del *FGFR1* y a nivel del gen del *FGFR2*

8.6.1. Seguimiento

La mediana de seguimiento en el total de pacientes incluidas en el trabajo fue de siete años (límites 0,2 a 29,1 años), y se alcanzaron los 7,8 años (límites 0,3 a 29,1 años) al excluir a las pacientes metastásicas de comienzo.

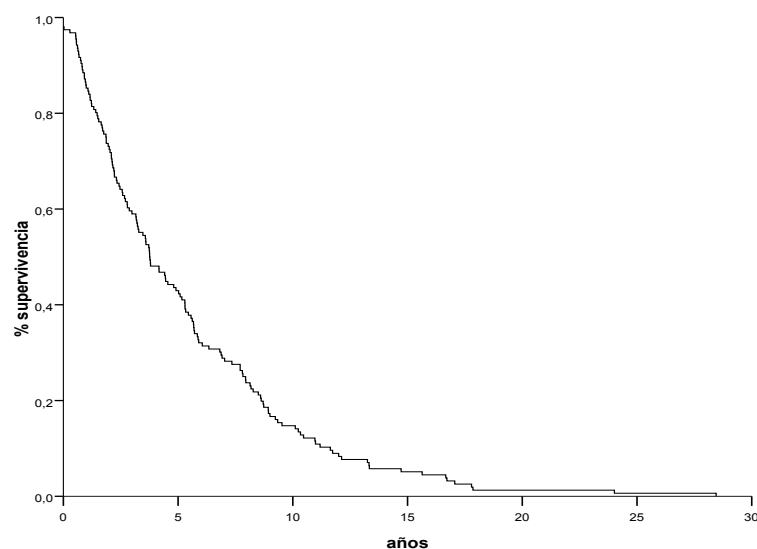
8.6.2. Supervivencia libre de enfermedad

8.6.2.1. Población global

La mediana de supervivencia libre de enfermedad fue de 3,8 años (intervalo de confianza al 95% [IC 95%]: 2,9 a 4,7) como se puede ver en la **figura 3**.

Figura 3

Supervivencia libre de enfermedad en la población global del trabajo



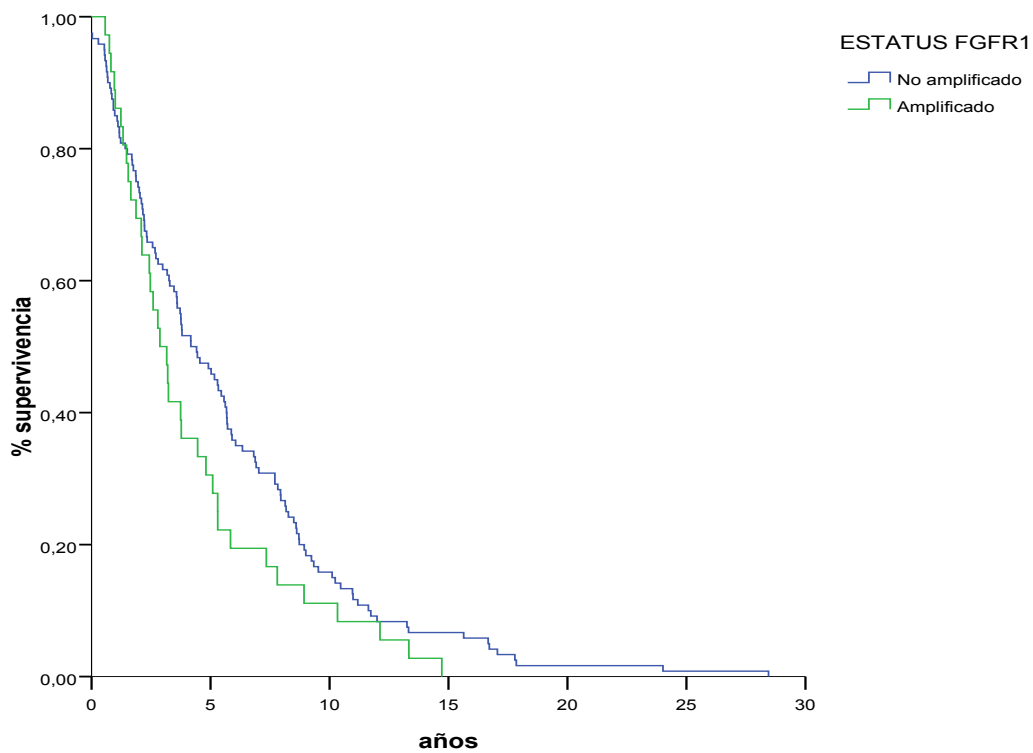
Mediana de supervivencia libre de enfermedad:
Población global: 3,8 años.

8.6.2.2. Supervivencia libre de enfermedad en función del estado del *FGFR1*

La mediana de supervivencia libre de enfermedad en las pacientes *FGFR1* amplificadas fue de 2,9 años (IC 95%: 2,0 a 3,8) y la de las pacientes no amplificadas fue de 4,2 años (IC 95%: 2,9 a 5,5; $p = 0,097$). Esta diferencia no fue estadísticamente significativa aunque se aprecia una tendencia a la misma. Estos resultados se muestran en la **figura 4**.

Figura 4

Supervivencia libre de enfermedad en función del estado del *FGFR1* (no amplificado *versus* amplificado)



Mediana de supervivencia libre de enfermedad:
FGFR1 no amplificadas: 4,2 años
FGFR1 amplificadas: 2,9 años
 $p = 0,097$.

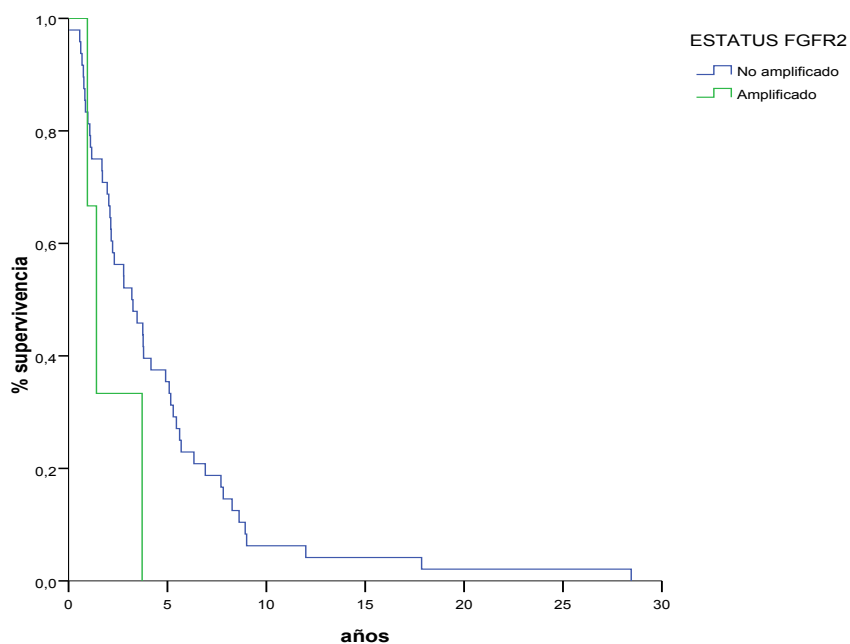
No se observaron diferencias significativas al analizar exclusivamente a las pacientes con tumores RE-positivos, con expresión de receptores hormonales (RE y/o RP) o con subtipo molecular luminal, aunque se volvió a observar en todos estos grupos una tendencia por parte de las pacientes *FGFR1* amplificadas a presentar una peor supervivencia libre de enfermedad, que por el contrario no se evidenció en las pacientes con tumores triple-negativos o HER2-positivos (resultados no mostrados).

8.6.2.3. Supervivencia libre de enfermedad en función del estado del *FGFR2*

La mediana de supervivencia libre de enfermedad en las pacientes *FGFR2* amplificadas fue de 1,4 años (IC 95%: 0,7 a 2,1) y la de las no amplificadas fue de 3,2 años (IC 95%: 1,6 a 4,8; $p = 0,140$). Estos resultados se encuentran recogidos en la **figura 5**.

Figura 5

Supervivencia libre de enfermedad en función del estado del *FGFR2* (no amplificado versus amplificado)



Mediana de supervivencia libre de enfermedad:
FGFR2 no amplificadas: 3,2 años
FGFR2 amplificadas: 1,4 años
 $p = 0,140$

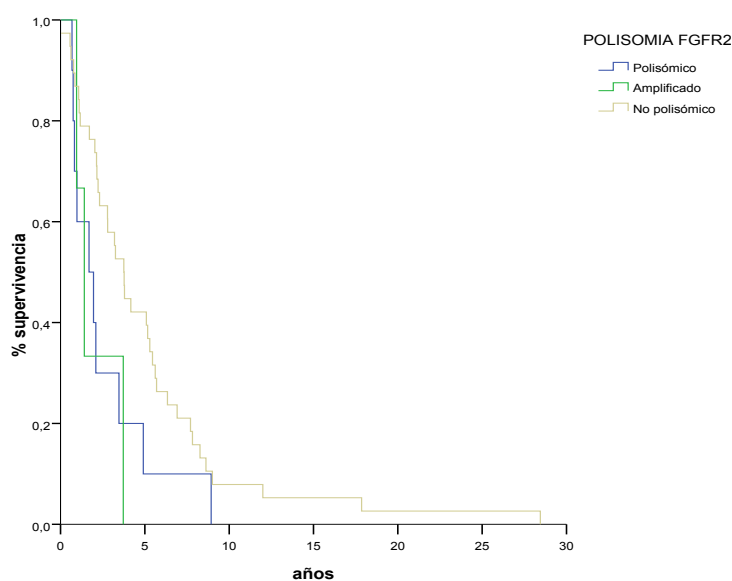
8.6.2.4. Supervivencia libre de enfermedad en función del estado de la polisomía de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2*

No se observaron diferencias significativas en la supervivencia libre de enfermedad en las pacientes con polisomía del gen del *FGFR1* en ausencia de amplificación del gen con respecto a las pacientes *FGFR1* no amplificadas no polisómicas y las pacientes *FGFR1* amplificadas (datos no mostrados). Sin embargo, se ha rozado la significación estadística en este parámetro en las pacientes con polisomía del gen del *FGFR2* en ausencia de amplificación del gen con respecto a las pacientes *FGFR2* no amplificadas no polisómicas y las pacientes *FGFR2* amplificadas ($p = 0,060$).

La mediana de supervivencia libre de enfermedad en las pacientes con polisomía del gen del *FGFR2* en ausencia de amplificación del gen fue de 1,7 años (IC 95%: 0,2 a 3,2) y la de las no polisómicas fue de 3,7 años (IC 95%: 2,9 a 4,6; $p = 0,048$). Estos resultados se muestran en la **figura 6**. No se observaron diferencias significativas en este parámetro al comparar a las pacientes polisómicas no amplificadas con las pacientes amplificadas (resultados no mostrados).

Figura 6

Supervivencia libre de enfermedad en función del estado del *FGFR2* considerando la polisomía del gen del *FGFR2* en ausencia de amplificación del gen



Mediana de supervivencia libre de enfermedad:
FGFR2 no amplificadas no polisómicas: 3,7 años
FGFR2 no amplificadas polisómicas: 1,7 años
FGFR2 amplificadas: 1,4 años
 $p = 0,060$

8.6.2.5. Supervivencia libre de enfermedad en función de la presencia de alteraciones a nivel del *FGFR*, a nivel del gen del *FGFR1* y a nivel del gen del *FGFR2*

En las pacientes con alteraciones a nivel del *FGFR* (amplificación y/o polisomía de al menos uno de los dos genes), la mediana de supervivencia libre de enfermedad fue de 3,2 años (IC 95%: 2,3 a 4,1), mientras que en las pacientes sin alteraciones fue de 4,2 años (IC 95%: 2,7 a 5,6; $p = 0,142$).

La mediana de supervivencia libre de enfermedad fue de 3,2 años (IC 95%: 2,5 a 4,0) en las pacientes con alteraciones a nivel del gen del *FGFR1* (amplificación y/o polisomía) y la de las pacientes sin alteraciones fue de 3,8 años (IC 95%: 2,4 a 5,2; $p = 0,309$).

Finalmente, la mediana de supervivencia libre de enfermedad de las pacientes con alteraciones a nivel del gen del *FGFR2* (amplificación y/o polisomía) fue de 1,7 años (IC 95%: 0,5 a 2,8), mientras que en las pacientes sin alteraciones fue de 3,7 años (IC 95%: 2,9 a 4,6; $p = 0,023$).

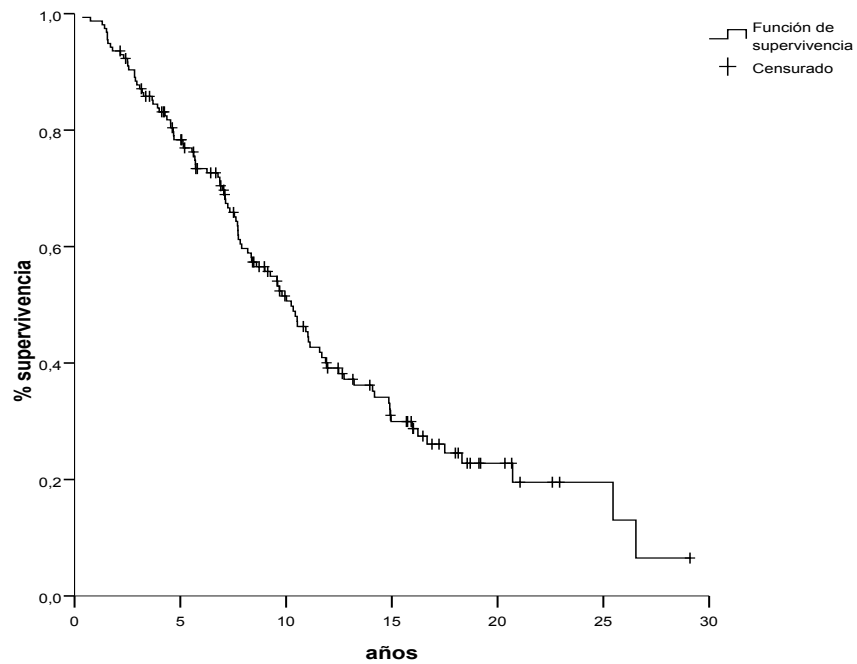
8.6.3. Supervivencia global

8.6.3.1. Población global

La mediana de supervivencia global fue de 10,2 años (IC 95%: 8,7 a 11,8) como se puede ver en la **figura 7**.

Figura 7

Supervivencia global en la población global del trabajo



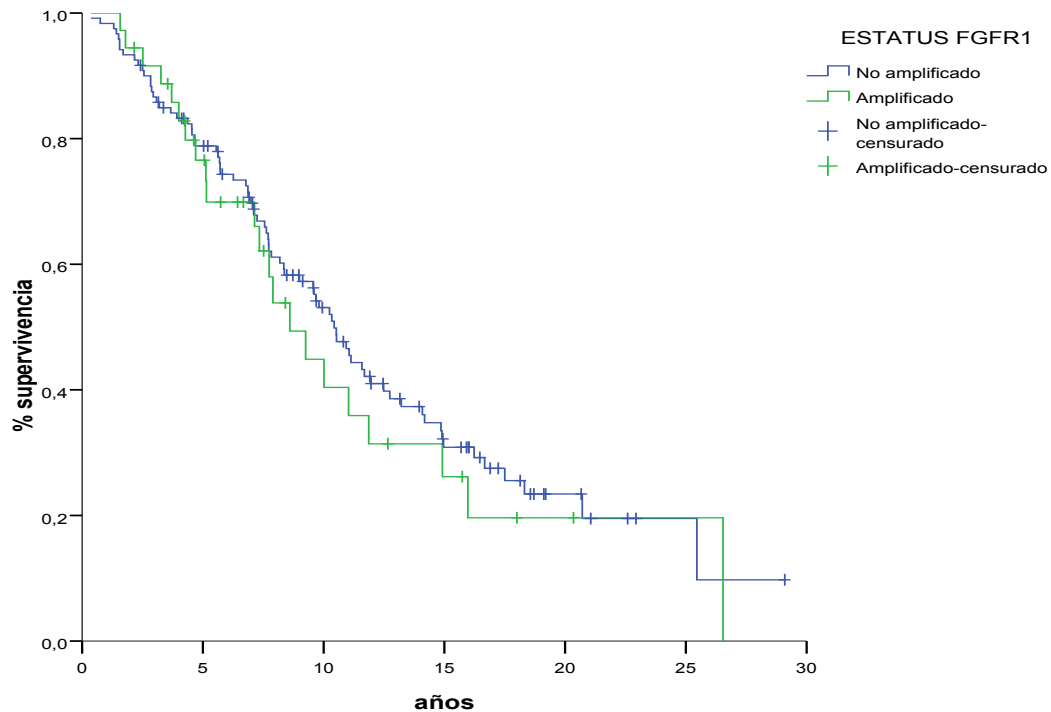
Mediana de supervivencia global:
Población global: 10,2 años.

8.6.3.2. Supervivencia global en función del estado del *FGFR1*

La mediana de supervivencia global en las pacientes *FGFR1* amplificadas fue de 8,6 años (IC 95%: 6,4 a 10,8) y la de las pacientes no amplificadas fue de 10,4 años (IC 95%: 9,1 a 11,8; $p = 0,550$). Estos resultados están recogidos en la **figura 8**.

Figura 8

Supervivencia global en función del estado del *FGFR1*
(no amplificado *versus* amplificado)



Mediana de supervivencia global:
FGFR1 no amplificadas: 10,4 años
FGFR1 amplificadas: 8,6 años
 $p = 0,550$

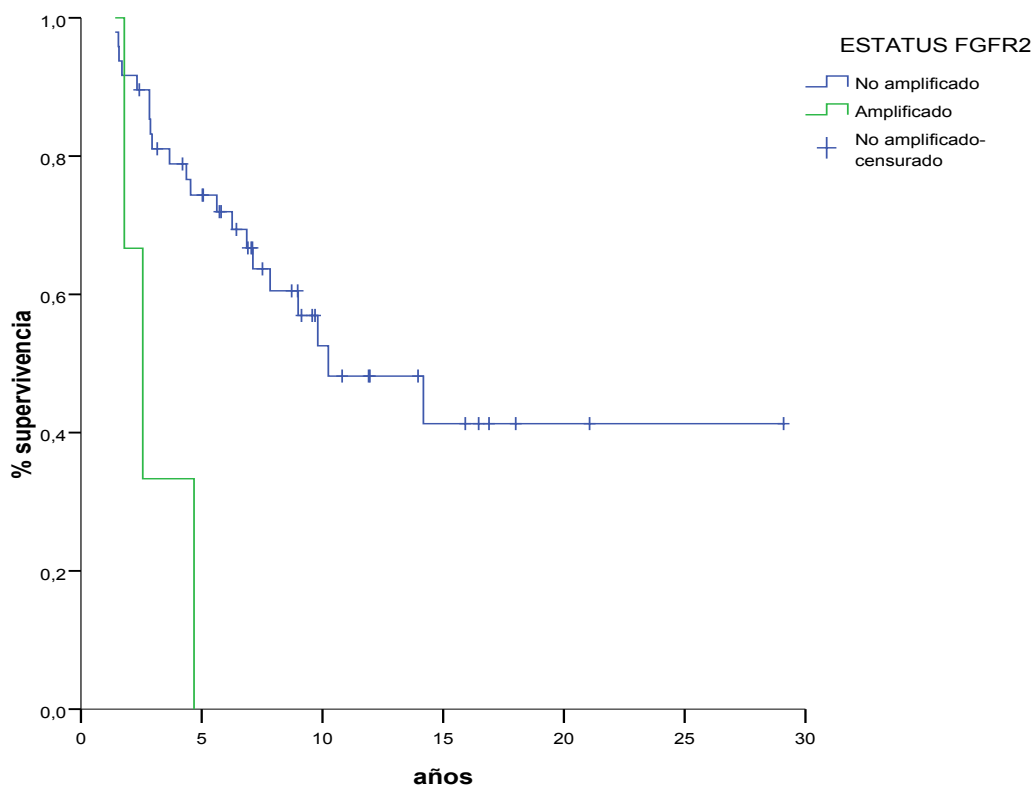
De nuevo, no se observaron diferencias significativas al analizar exclusivamente a las pacientes con tumores RE-positivos, con expresión de receptores hormonales (RE y/o RP) o con subtipo molecular luminal. Tampoco se evidenciaron diferencias significativas en las pacientes con tumores triple-negativos o HER2-positivos (resultados no mostrados).

8.6.3.3. Supervivencia global en función del estado del *FGFR2*

La mediana de supervivencia global en las pacientes *FGFR2* amplificadas fue de 2,6 años (IC 95%: 1,3 a 3,8) y la de las no amplificadas fue de 10,2 años (IC 95%: 4,5 a 16,0; $p = 0,002$). Estos resultados se muestran en la **figura 9**.

Figura 9

Supervivencia global en función del estado del *FGFR2*
(no amplificado *versus* amplificado)



Mediana de supervivencia global:
FGFR2 no amplificadas: 10,2 años
FGFR2 amplificadas: 2,6 años
 $p = 0,002$

8.6.3.4. Supervivencia global en función del estado de la polisomía de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2*

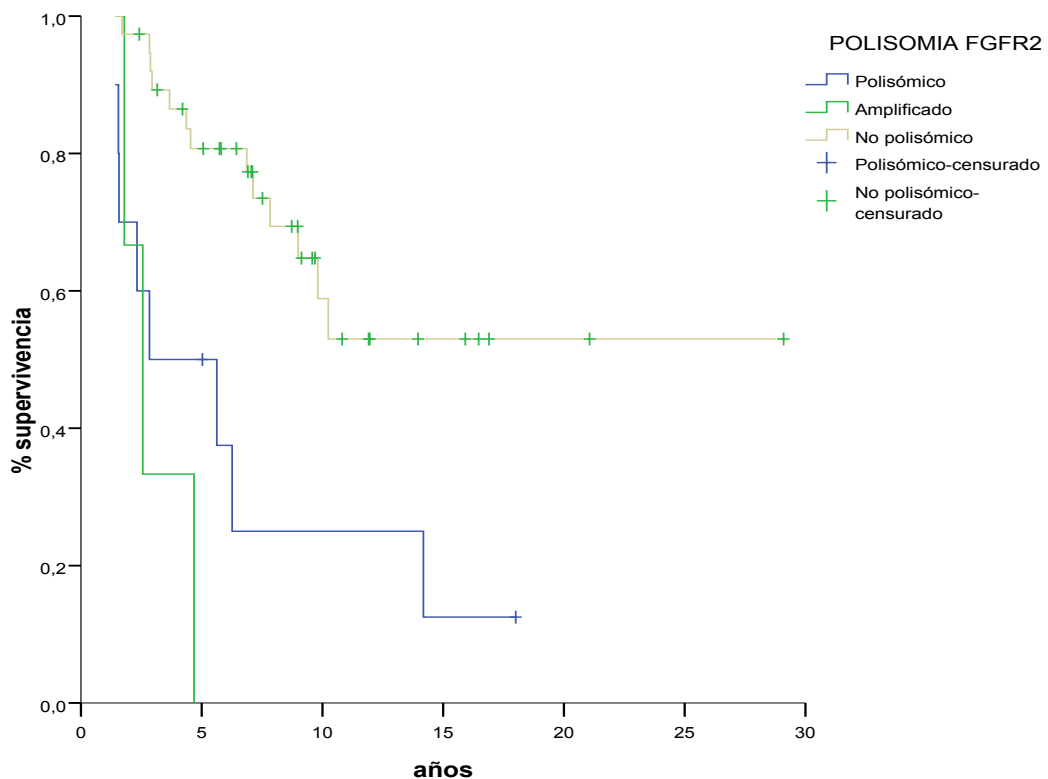
No se observaron diferencias significativas en la supervivencia global en las pacientes con polisomía del gen del *FGFR1* en ausencia de amplificación del gen con respecto a las pacientes *FGFR1* no amplificadas no polisómicas y las pacientes *FGFR1* amplificadas (datos no mostrados). Por el contrario, sí se objetivaron diferencias significativas en este parámetro en las pacientes con polisomía del gen del *FGFR2* en ausencia de

amplificación del gen con respecto a las pacientes *FGFR2* no amplificadas no polisómicas y las pacientes *FGFR2* amplificadas ($p < 0,001$).

La mediana de supervivencia global en las pacientes con polisomía del gen del *FGFR2* en ausencia de amplificación del gen fue de 2,8 años (IC 95%: 0,0 a 7,4), y no se alcanzó en las pacientes no polisómicas ($p = 0,002$), como se puede ver en la **figura 10**. No se observaron diferencias significativas en este parámetro al comparar a las pacientes polisómicas no amplificadas con las pacientes amplificadas (resultados no mostrados).

Figura 10

Supervivencia global en función del estado del *FGFR2* considerando la polisomía del gen del *FGFR2* en ausencia de amplificación del gen



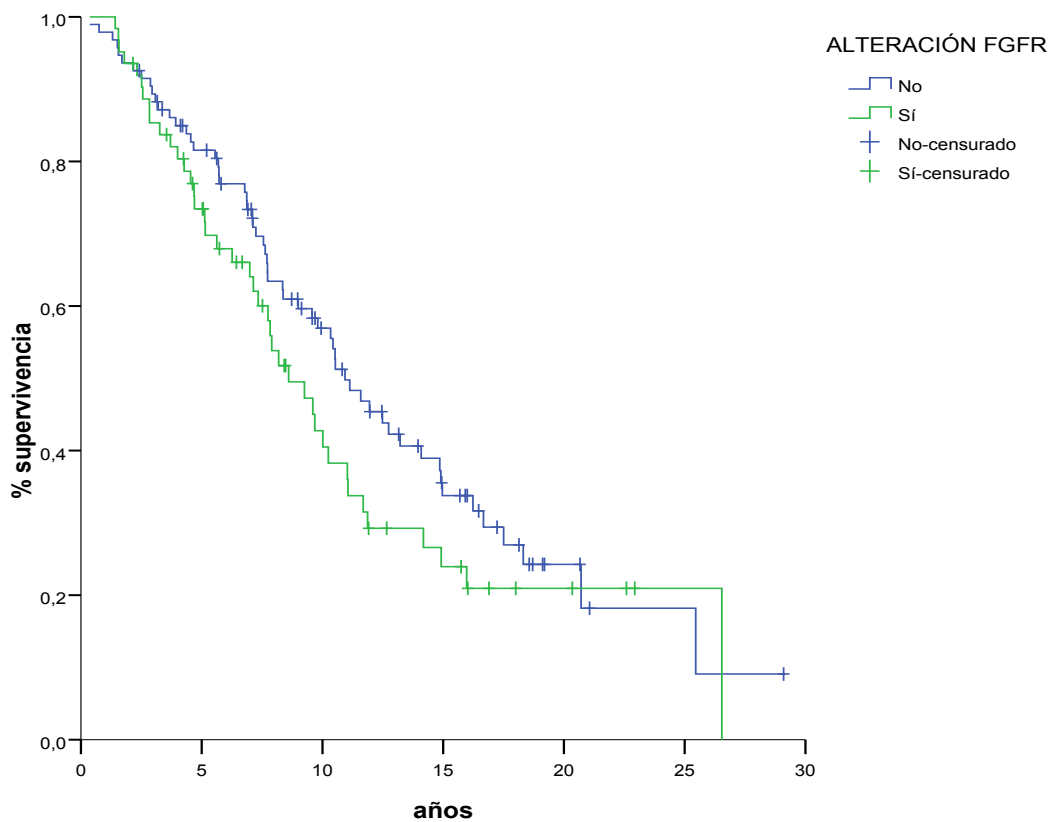
Mediana de supervivencia global:
FGFR2 no amplificadas no polisómicas: no alcanzada
FGFR2 no amplificadas polisómicas: 2,8 años
FGFR2 amplificadas: 2,6 años
 $p < 0,001$

8.6.3.5. Supervivencia global en función de la presencia de alteraciones a nivel del *FGFR*, a nivel del gen del *FGFR1* y a nivel del gen del *FGFR2*

La mediana de supervivencia global en las pacientes con alteraciones a nivel del *FGFR* fue de 8,6 años (IC 95%: 6,7 a 10,5) y la de las pacientes sin alteraciones fue de 10,9 años (IC 95%: 8,9 a 12,9; $p = 0,188$), como se recoge en la **figura 11**.

Figura 11

Supervivencia global en función de la presencia o no de alteraciones a nivel del *FGFR*



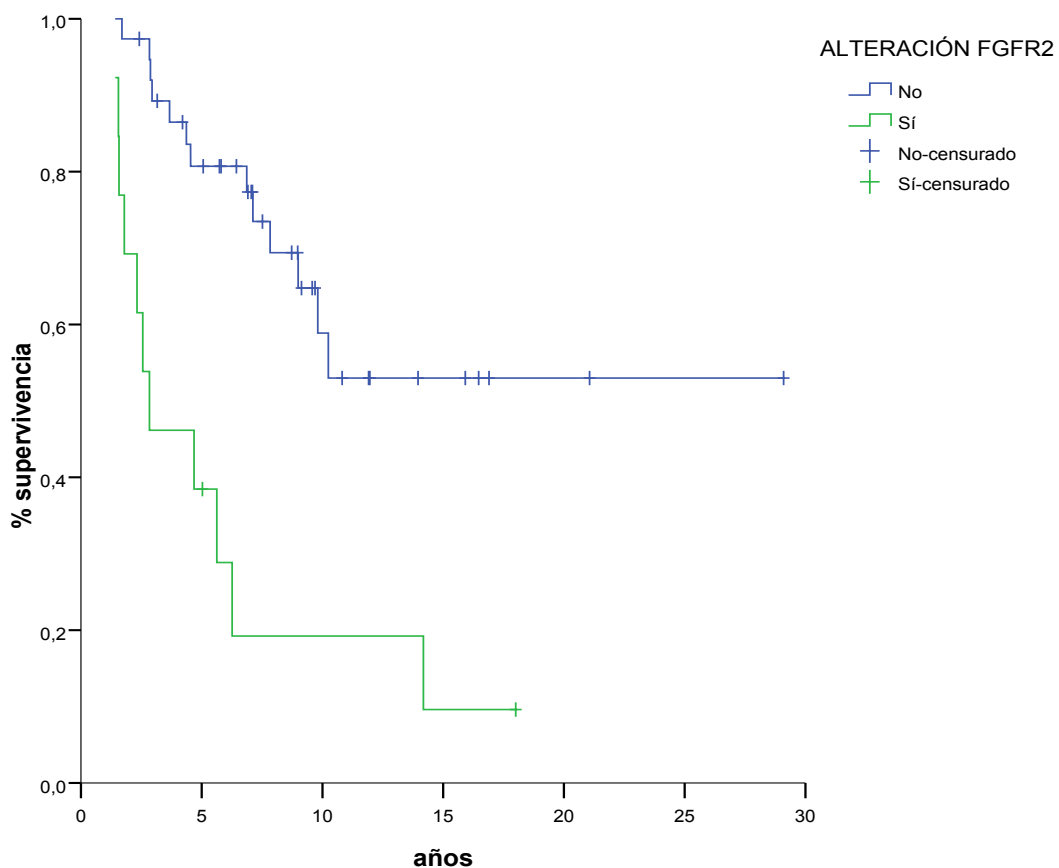
Mediana de supervivencia global:
Sin alteración a nivel del *FGFR*: 10,9 años
Con alteración a nivel del *FGFR*: 8,6 años
 $p = 0,188$

La mediana de supervivencia global en las pacientes con alteraciones a nivel del gen del *FGFR1* fue de 9,2 años (IC 95%: 7,1 a 11,4) y la de las pacientes sin alteraciones fue de 10,9 años (IC 95%: 8,8 a 13,0; $p = 0,444$).

Por último, la mediana de supervivencia global en las pacientes con alteraciones a nivel del gen del *FGFR2* fue de 2,8 años (IC 95%: 0,1 a 5,6), y no se alcanzó en las pacientes sin alteraciones ($p < 0,001$). En la **figura 12** se muestra la supervivencia global en función de la presencia o no de alteraciones a nivel del gen del *FGFR2*.

Figura 12

Supervivencia global en función de la presencia o no de alteraciones a nivel del gen del *FGFR2*



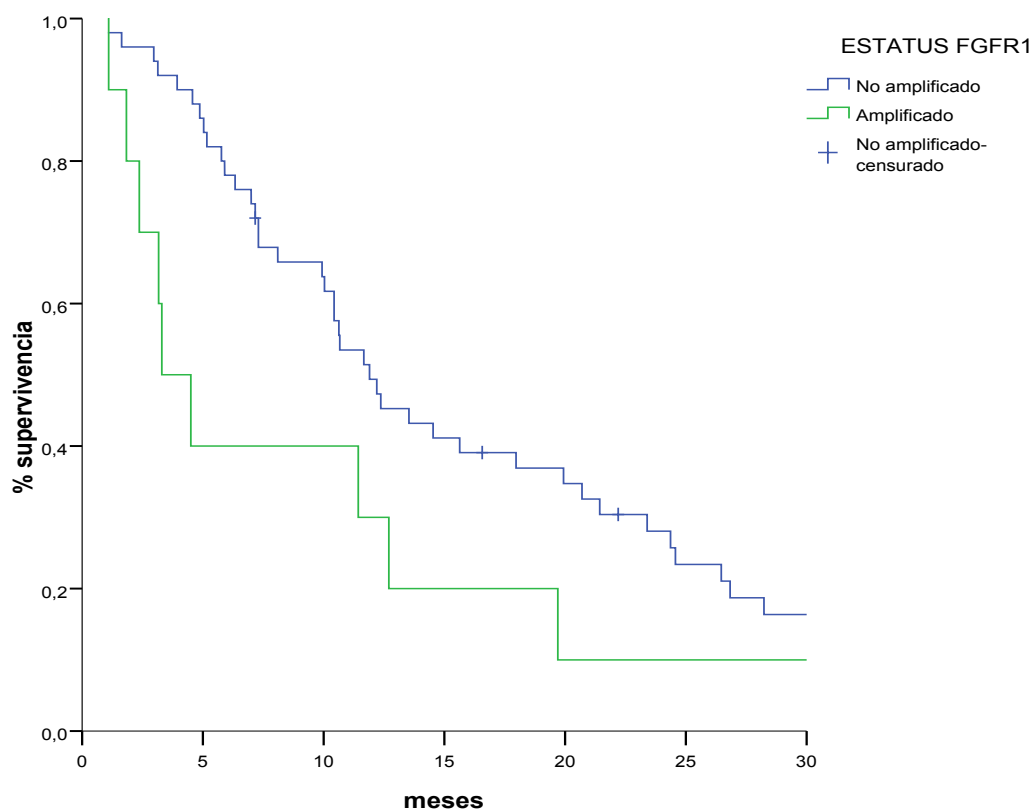
Mediana de supervivencia global:
Sin alteración a nivel del gen del *FGFR2*: no alcanzada
Con alteración a nivel del gen del *FGFR2*: 2,8 años
 $p < 0,001$

8.6.4. Tiempo libre de progresión de la primera línea de tratamiento hormonal

Con el objetivo de evaluar la posible resistencia al tratamiento hormonal secundaria a la amplificación del gen del *FGFR1* se ha evaluado el tiempo libre de progresión de la primera línea de tratamiento hormonal en sesenta pacientes con expresión del RE que previamente no habían recibido ningún tratamiento en el contexto de la enfermedad avanzada. La mediana de tiempo libre de progresión en las pacientes *FGFR1* amplificadas fue de 3,3 meses (IC 95%: 1,2 a 5,4), y se alcanzaron los 11,9 meses (IC 95%: 8,6 a 15,2; $p = 0,039$) en las pacientes sin amplificación del gen del *FGFR1*. Estos resultados se encuentran resumidos en la **figura 13**.

Figura 13

Tiempo libre de progresión de la primera línea de tratamiento hormonal en función del estado del *FGFR1* (no amplificado *versus* amplificado)



Tiempo libre de progresión:
FGFR1 no amplificadas: 11,9 meses
FGFR1 amplificadas: 3,3 meses
 $p = 0,039$

8.6.5. Análisis univariante y multivariante de supervivencia libre de enfermedad

Tal y como se describió en el apartado de métodos, para realizar el análisis multivariante se ha llevado a cabo previamente un análisis univariante, mediante regresión de Cox, y han resultado estadísticamente significativos la presencia de alteraciones a nivel del gen del *FGFR2*, el subtipo molecular y el estado ganglionar; además, el estado de la polisomía del gen del *FGFR2* ha rozado la significación estadística. Estos resultados se encuentran recogidos en la **tabla 13**.

Tabla 13
Análisis univariante de supervivencia libre de enfermedad

Factor de riesgo	Hazard ratio	IC 95%	p
Edad			0,325
< 50 años vs. 50-65 años	0,603	0,302-1,205	
< 50 años vs. > 65 años	0,561	0,277-1,137	
Grado histológico			0,738
1/2 vs. 3	0,939	0,651-1,354	
Estado ganglionar			0,022
N0 vs. N+	0,654	0,451-0,949	
Tamaño tumoral			0,236
T1/2 vs. T3/T4	0,784	0,529-1,163	
Subtipo molecular			0,039
Luminal vs. basal	0,774	0,486-1,230	
Luminal vs. HER2-positivo	1,386	0,779-2,465	
Estado del <i>FGFR1</i>			0,108
No amplificado vs. amplificado	0,728	0,499-1,062	
Estado del <i>FGFR2</i>			0,201
No amplificado vs. amplificado	0,417	0,125-1,384	
Estado de la polisomía del gen del <i>FGFR1</i>			0,957
No polisómico vs. polisómico	1,013	0,636-1,613	
Estado de la polisomía del gen del <i>FGFR2</i>			0,084
No polisómico vs. polisómico	0,512	0,251-1,046	
Alteración a nivel del gen del <i>FGFR1</i>			0,313
No vs. sí	0,844	0,608-1,171	
Alteración a nivel del gen del <i>FGFR2</i>			0,035
No vs. sí	0,475	0,247-0,913	
Alteración a nivel del <i>FGFR</i>			0,146
No vs. sí	0,784	0,567-1,085	

IC 95%: intervalo de confianza al 95% para la *hazard ratio*; FGFR: receptor del factor de crecimiento fibroblástico.

En el modelo multivariante se han incluido el estado ganglionar, el subtipo molecular y el estado del *FGFR1* y del *FGFR2* dado su interés clínico en nuestro trabajo, sin que ninguna de estas variables haya alcanzado la significación estadística, como se puede observar en la **tabla 14**.

Tabla 14
Análisis multivariante de supervivencia libre de enfermedad

Factor pronóstico	Hazard ratio (IC 95%)	p
Estado ganglionar	0,894 (0,432-1,851)	0,764
Subtipo molecular	0,797 (0,526-1,207)	0,285
Estado del <i>FGFR1</i>	1,230 (0,361-4,184)	0,741
Estado del <i>FGFR2</i>	0,392 (0,115-1,328)	0,133

IC 95%: intervalo de confianza al 95% para la *hazard ratio*;
FGFR: receptor del factor de crecimiento fibroblástico.

Además, se han realizado dos análisis multivariantes adicionales, como se detalló en el apartado de métodos, en los que se han sustituido las variables estado de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* por la presencia de alteraciones a nivel del *FGFR*, y las variables estado del *FGFR1* y del *FGFR2* por la presencia de alteraciones a nivel del gen del *FGFR1* y del gen del *FGFR2*, respectivamente. Estas variables se han incluido junto el estado ganglionar y el subtipo molecular. En el primer análisis, solamente el estado ganglionar se ha mostrado como factor pronóstico independiente (*hazard ratio* [HR] = 0,616; p = 0,012). Este resultado indica que la probabilidad de recaída en las pacientes sin afectación ganglionar disminuye casi un 40% con respecto a las pacientes con afectación ganglionar. Además, en este primer análisis el subtipo molecular también ha rozado la significación estadística (HR = 0,813; p = 0,060). En el segundo análisis, de nuevo, ninguna variable ha alcanzado la significación estadística. Estos resultados se encuentran recogidos en las **tablas 15 y 16**.

Tabla 15

Análisis multivariante de supervivencia libre de enfermedad considerando la presencia de alteraciones a nivel del *FGFR*

Factor pronóstico	Hazard ratio (IC 95%)	p
Estado ganglionar	0,616 (0,422-0,899)	0,012
Subtipo molecular	0,813 (0,656-1,008)	0,060
Alteración a nivel del <i>FGFR</i>	0,765 (0,540-1,084)	0,132

IC 95%: intervalo de confianza al 95% para la *hazard ratio*;
FGFR: receptor del factor de crecimiento fibroblástico.

Tabla 16

Análisis multivariante de supervivencia libre de enfermedad considerando la presencia de alteraciones a nivel de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* por separado

Factor pronóstico	Hazard ratio (IC 95%)	p
Estado ganglionar	0,775 (0,373-1,610)	0,495
Subtipo molecular	0,898 (0,592-1,364)	0,616
Alteración a nivel del gen del <i>FGFR1</i>	1,082 (0,476-2,457)	0,850
Alteración a nivel del gen del <i>FGFR2</i>	0,501 (0,200-1,248)	0,138

IC 95%: intervalo de confianza al 95% para la *hazard ratio*; FGFR: receptor del factor de crecimiento fibroblástico.

8.6.6. Análisis univariante y multivariante de supervivencia global

En el análisis univariante han resultado estadísticamente significativas todas las variables a excepción del estado del *FGFR1*, el estado de la polisomía del gen del *FGFR1*, la presencia de alteraciones a nivel del *FGFR*, la presencia de alteraciones a nivel del gen del *FGFR1*, la edad y el ECOG. Estos resultados se encuentran recogidos en la **tabla 17**.

Tabla 17

Análisis univariante de supervivencia global

Factor de riesgo	Hazard ratio	IC 95%	p
Edad			
< 50 años vs. 50-65 años	0,603	0,258-1,407	0,468
< 50 años vs. > 65 años	0,557	0,234-1,329	
ECOG			
0 vs. 1	0,901	0,464-1,751	0,762
Intervalo libre de enfermedad			
> 24 meses vs. ≤ 24 meses	0,139	0,086-0,225	< 0,001
Subtipo molecular			
Luminal vs. basal	0,721	0,420-1,237	0,011
Luminal vs. HER2-positivo	1,740	0,882-3,432	
M1 a distancia			
< 3 localizaciones sin M1 hepáticas vs. ≥ 3 localizaciones o M1 hepáticas	0,608	0,397-0,930	0,024
Tratamiento de quimioterapia neo(adyuvante) recibido			
Otros tratamientos vs. antraciclinas/taxanos	0,257	0,163-0,407	< 0,001
Estado del <i>FGFR1</i>			
No amplificado vs. amplificado	0,865	0,537-1,393	0,555
Estado del <i>FGFR2</i>			
No amplificado vs. amplificado	0,163	0,045-0,588	0,021
Estado de la polisomía del gen del <i>FGFR1</i>			
No polisómico vs. polisómico	0,864	0,491-1,523	0,619
Estado de la polisomía del gen del <i>FGFR2</i>			
No polisómico vs. polisómico	0,272	0,111-0,663	0,008
Alteración a nivel del gen del <i>FGFR1</i>			
No vs. sí	0,853	0,567-1,283	0,448
Alteración a nivel del gen del <i>FGFR2</i>			
No vs. sí	0,230	0,102-0,520	0,001
Alteración a nivel del <i>FGFR</i>			
No vs. sí	0,765	0,512-1,142	0,194

ECOG: escala del Eastern Cooperative Oncologic Group; FGFR: receptor del factor de crecimiento fibroblástico; IC 95%: intervalo de confianza al 95% para la *hazard ratio*; M1: metástasis.

En el modelo multivariante de supervivencia global se han incluido todas las variables con significación estadística en el análisis univariante junto al estado del *FGFR1*. El intervalo libre de enfermedad (HR = 0,195; p = 0,002) y el estado del *FGFR2* (HR = 0,170; p = 0,019) se han mostrado como los únicos factores pronósticos independientes, como se puede observar en la **tabla 18**. Por lo tanto, las pacientes con un intervalo libre de enfermedad mayor de veinticuatro meses, así como las pacientes sin amplificación del gen del *FGFR2*, tienen alrededor de un 80% menos de riesgo de muerte que las pacientes con un intervalo libre de enfermedad menor o igual a veinticuatro meses y que las pacientes *FGFR2* amplificadas, respectivamente, independientemente del resto de las variables.

Tabla 18
Análisis multivariante de supervivencia global

Factor pronóstico	Hazard ratio (IC 95%)	p
Intervalo libre de enfermedad	0,195 (0,068-0,562)	0,002
Subtipo molecular	0,760 (0,399-1,443)	0,402
M1 a distancia	0,645 (0,216-1,923)	0,432
Tratamiento de quimioterapia neo(adyuvante) recibido	0,719 (0,222-2,320)	0,581
Estado del <i>FGFR1</i>	3,401 (0,418-27,777)	0,252
Estado del <i>FGFR2</i>	0,170 (0,038-0,749)	0,019

FGFR: receptor del factor de crecimiento fibroblástico; IC 95%: intervalo de confianza al 95% para la *hazard ratio*; M1: metástasis.

Asimismo, se han vuelto a repetir los dos análisis multivariantes adicionales que se realizaron con la supervivencia libre de enfermedad. En el primer análisis, el intervalo libre de enfermedad (HR = 0,126; p < 0,001) y el tratamiento de quimioterapia (neo)adyuvante previamente recibido se han mostrado como los únicos factores pronósticos independientes (HR = 0,242; p < 0,001). Además, en este primer análisis la localización y el número de metástasis a distancia también ha rozado la significación estadística (HR = 0,679; p = 0,082). En el segundo análisis, el intervalo libre de enfermedad ha sido el único factor pronóstico independiente (HR = 0,194; p = 0,002). Estos resultados se muestran en las **tablas 19 y 20**.

Tabla 19

Análisis multivariante de supervivencia global considerando la presencia de alteraciones a nivel del *FGFR*

Factor pronóstico	Hazard ratio (IC 95%)	p
Intervalo libre de enfermedad	0,126 (0,071-0,222)	< 0,001
Subtipo molecular	1,127 (0,853-1,488)	0,398
M1 a distancia	0,679 (0,439-1,049)	0,082
Tratamiento de quimioterapia neo(adyuvante) recibido	0,242 (0,147-0,398)	< 0,001
Alteración a nivel del <i>FGFR</i>	0,800 (0,520-1,230)	0,309

FGFR: receptor del factor de crecimiento fibroblástico; IC 95%: intervalo de confianza al 95% para la *hazard ratio*; M1: metástasis.

Tabla 20

Análisis multivariante de supervivencia global considerando la presencia de alteraciones a nivel de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2*

Factor pronóstico	Hazard ratio (IC 95%)	p
Intervalo libre de enfermedad	0,194 (0,067-0,556)	0,002
Subtipo molecular	0,911 (0,493-1,683)	0,767
M1 a distancia	0,672 (0,234-1,930)	0,461
Tratamiento de quimioterapia neo(adyuvante) recibido	0,780 (0,249-2,444)	0,671
Alteración a nivel del gen del <i>FGFR1</i>	1,120 (0,329-3,802)	0,856
Alteración a nivel del gen del <i>FGFR2</i>	0,365 (0,111-1,203)	0,098

FGFR: receptor del factor de crecimiento fibroblástico; IC 95%: intervalo de confianza al 95% para la *hazard ratio*; M1: metástasis.

8.7. Asociación entre la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* con otras alteraciones moleculares

En 73 pacientes incluidas en el trabajo (35,6% del total) se llevó a cabo un análisis adicional para detectar la presencia de otras alteraciones moleculares existentes en el tumor.

De las 47 pacientes con amplificación del gen del *FGFR1* se evaluó la existencia de otras alteraciones moleculares en 15 pacientes (31,9%), y de las 158 pacientes sin amplificación del gen del *FGFR1* se analizó la existencia de otras alteraciones moleculares en 58 pacientes (36,7%). De las tres pacientes *FGFR2* amplificadas se realizó este análisis molecular adicional en una única paciente (33,3%) que también era *FGFR1* no amplificada. La determinación de este análisis se llevó a cabo mediante la tecnología previamente descrita en el apartado de métodos (97,3% Sequenom MassARRAY® y 2,7% Amplicon-Seq).

La alteración molecular más frecuentemente detectada en las 73 pacientes analizadas fue la mutación en *PIK3CA* (27,4%), al igual que en las 15 pacientes *FGFR1* amplificadas donde también fue la mutación más predominante (20%). Asimismo, en dos pacientes, una con y otra sin amplificación del gen del *FGFR1*, se detectó una mutación en *AKT1* (E17K), en una paciente *FGFR1* no amplificada y con mutación en *PIK3CA* también se detectó una mutación en *KRAS* (G12V), y en otra paciente *FGFR1* amplificada se detectó una mutación en *EGFR* (F712L) junto con una mutación en *TP53* (R248W). Estos datos se encuentran resumidos en la **tabla 21**.

La única paciente *FGFR2* amplificada a la que se le realizó este análisis molecular resultó ser *wild-type*.

De forma global, las mutaciones H1047R (35%), E545K (30%) y E542K (20%) fueron las más frecuentemente detectadas a nivel de *PIK3CA*. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre la presencia de uno u otro tipo de mutación de *PIK3CA* y el estado del *FGFR1* ($p = 0,155$). El tipo y la frecuencia de mutaciones en *PIK3CA* se encuentran recogidos en la **tabla 22**.

Tabla 21

Resultados del análisis molecular adicional en función del estado de la amplificación del gen del *FGFR1*

Resultado	Total (n = 73)	<i>FGFR1</i> no amplificadas (n = 58)	<i>FGFR1</i> amplificadas (n = 15)	p
<i>Wild-type</i>	50 (68,4%)	40 (69,0%)	10 (66,7%)	0,228
Mutación <i>PIK3CA</i>	20 (27,4%)	17 (29,3%) ^a	3 (20,0%)	
Otras alteraciones ^b	3 (4,2%)	1 (1,7%)	2 (13,3%)	

FGFR: receptor del factor de crecimiento fibroblástico; PIK3CA: subunidad catalítica de la fosfatidilinositol-3-quinasa.

^a Una paciente también tenía una mutación en *KRAS*.

^b *AKT1*, *KRAS*, *TP53* y *EGFR*.

Tabla 22

Tipo y frecuencia de mutaciones en *PIK3CA*

Tipo de mutación	Total (n= 20)	<i>FGFR1</i> no amplificadas (n = 17)	<i>FGFR1</i> amplificadas (n = 3)	p
<i>PIK3CA</i> H1047R	7 (35,0%)	6 (35,3%)	1 (33,3%)	0,155
<i>PIK3CA</i> E545K	6 (30,0%)	6 (35,3%)	0 (0,0%)	
<i>PIK3CA</i> E542K	4 (20,0%)	4 (23,5%)	0 (0,0%)	
<i>PIK3CA</i> H1047L	1 (5,0%)	0 (0,0%)	1 (33,3%)	
<i>PIK3CA</i> N345K	1 (5,0%)	0 (0,0%)	1 (33,3%)	
<i>PIK3CA</i> C420R	1 (5,0%)	1 (5,9%)	0 (0,0%)	

FGFR: receptor del factor de crecimiento fibroblástico; PIK3CA: subunidad catalítica de la fosfatidilinositol-3-quinasa.

8.8. Concordancia en el estado de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* entre el tumor primario y las metástasis

De las pacientes incluidas, se identificaron dieciséis pacientes con muestras pareadas procedentes del tumor primario y de la localización metastásica a las que se analizó el estado de la amplificación del gen del *FGFR1*. Clasificando a las pacientes en función del estado de la amplificación del gen del *FGFR1* en el tumor primario, ocho pacientes eran *FGFR1* amplificadas, y las ocho pacientes restantes no presentaban amplificación del gen. La concordancia global del estado de la amplificación del gen del *FGFR1* entre el tumor primario y la localización metastásica fue del 87,5%. Estos datos se resumen en la **tabla 23**.

Tabla 23

Concordancia en el estado de la amplificación del gen del *FGFR1* entre el tumor primario y las metástasis

		Metástasis	
		Amplificado	No amplificado
Primario	Amplificado	7	1
	No amplificado	1	7

En cuanto a las pacientes amplificadas, se confirmó una concordancia en el estado de la amplificación del gen del *FGFR1* entre el tumor primario y las metástasis en siete pacientes (87,5%), y el estado de la amplificación del gen del *FGFR1* fue discordante en una paciente. Esta paciente tenía una amplificación del gen del *FGFR1* en el tumor primario, siendo *FGFR1* no amplificada en la localización metastásica (tabla 24, paciente número 4).

Con respecto a las pacientes no amplificadas, se confirmó una concordancia en el estado de la amplificación del gen del *FGFR1* entre el tumor primario y las metástasis en siete pacientes (87,5%), y el estado de la amplificación del gen del *FGFR1* también fue discordante en una paciente. Esta paciente no presentaba amplificación del gen del

FGFR1 en el tumor primario, siendo claramente *FGFR1* amplificada en la localización metastásica (tabla 24, paciente número 6). Todos estos resultados se encuentran recogidos en la **tabla 24**.

Tabla 24

Estado de la amplificación del gen del *FGFR1* en las pacientes con muestras pareadas

Paciente	Primario				Metástasis			
	Cromosoma	FGFR1	Ratio	Estado	Cromosoma	FGFR1	Ratio	Estado
1	2.45	14.80	6,04	Amplificado	2.40	16.70	6,96	Amplificado
2	2.05	11.10	5,41	Amplificado	2.25	12.50	5,56	Amplificado
3	2.20	11.15	5,07	Amplificado	2.10	15.95	7,60	Amplificado
4	6.65	17.70	2,66	Amplificado	5.57	7.50	1,35	No amplificado
5	2.20	20.05	9,11	Amplificado	2.70	15.90	5,89	Amplificado
6	2.15	2.35	1,09	No amplificado	2.25	11.55	5,13	Amplificado
7	2.10	7.15	3,40	Amplificado	3.30	10.30	3,12	Amplificado
8	2.30	15.35	6,67	Amplificado	2.20	18.75	8,52	Amplificado
9	2.44	7.05	2,94	Amplificado	1.40	7.60	5,85	Amplificado
10	2.20	2.35	1,07	No amplificado	2.10	2.30	1,10	No amplificado
11	2.05	2.15	1,05	No amplificado	2.10	2.05	0,98	No amplificado
12	2.15	1.80	0,84	No amplificado	2.45	2.80	1,14	No amplificado
13	3.55	3.75	1,06	No amplificado	2.15	2.11	0,98	No amplificado
14	1.85	1.70	0,92	No amplificado	2.00	2.00	1,00	No amplificado
15	2.25	2.25	1,00	No amplificado	2.00	1.95	0,98	No amplificado
16	2.05	2.05	1,00	No amplificado	2.00	1.95	0,98	No amplificado

FGFR: receptor del factor de crecimiento fibroblástico.

En cuanto a la concordancia en el estado de la amplificación del gen del *FGFR2*, se identificaron trece pacientes con muestras pareadas procedentes del tumor primario y de la localización metastásica a las que se analizó el estado de la amplificación del gen del *FGFR2*. Clasificando a las pacientes en función del estado de la amplificación del gen del *FGFR2* en el tumor primario, dos pacientes eran *FGFR2* amplificadas, y las once pacientes restantes no presentaban amplificación del gen; la concordancia global del estado de la amplificación del gen del *FGFR2* entre el tumor primario y la localización metastásica fue del 100%. Estos datos se resumen en las **tablas 25 y 26**.

Tabla 25

Concordancia en el estado de la amplificación del gen del *FGFR2* entre el tumor primario y las metástasis

		Metástasis	
		Amplificado	No amplificado
Primario	Amplificado	2	0
	No amplificado	0	11

Tabla 26

Estado de la amplificación del gen del *FGFR2* en
las pacientes con muestras pareadas

Paciente	Primario				Metástasis			
	Cromosoma	FGFR2	Ratio	Estado	Cromosoma	FGFR2	Ratio	Estado
1	3.40	8.90	2,62	Amplificado	4.25	9.95	2,34	Amplificado
2	2.30	5.65	2,45	Amplificado	1.40	3.20	2,25	Amplificado
3	2.05	2.00	0,98	No amplificado	2.05	2.10	1,02	No amplificado
4	1.90	1.90	1,00	No amplificado	2.10	2.05	0,98	No amplificado
5	1.90	1.75	0,92	No amplificado	2.25	2.05	0,91	No amplificado
6	2.10	2.15	1,02	No amplificado	2.10	2.00	0,95	No amplificado
7	3.00	3.10	1,03	No amplificado	3.20	3.50	1,09	No amplificado
8	2.05	2.00	0,98	No amplificado	2.00	1.90	0,95	No amplificado
9	1.80	1.75	0,97	No amplificado	1.85	1.80	0,97	No amplificado
10	1.90	1.90	1,00	No amplificado	1.95	1.80	0,92	No amplificado
11	1.80	1.95	1,08	No amplificado	2.20	2.00	0,91	No amplificado
12	2.00	1.95	0,98	No amplificado	2.05	2.00	0,98	No amplificado
13	1.90	1.70	0,89	No amplificado	2.00	1.85	0,93	No amplificado

FGFR: receptor del factor de crecimiento fibroblástico.

8.9. Importancia de un programa de *pre-screening* molecular en la inclusión de pacientes en estudios clínicos con inhibidores de los FGFR

Se identificaron 66 pacientes con alguna alteración molecular tributaria de tratamiento con terapia dirigida dentro de ensayo clínico (32,2%). Dentro de estas alteraciones moleculares accionables se incluyeron la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2*, así como la mutación en *PIK3CA*; tres pacientes presentaron de forma simultánea amplificación del gen del *FGFR1* y mutación en *PIK3CA*, y una paciente coamplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2*.

Un total de 25 de las 205 pacientes incluidas en nuestro trabajo fueron tratadas con inhibidores de los FGFR dentro de ensayo clínico (12,2%). Además, de estas pacientes, seis fueron incluidas en dos estudios clínicos diferentes durante la evolución de su enfermedad, por lo que el número total de inclusiones en ensayos clínicos con inhibidores de los FGFR fue de 31 (15,1%).

De las 47 pacientes identificadas con amplificación del gen del *FGFR1*, 20 fueron incluidas en estudios clínicos con inhibidores de los FGFR (42,1%), lo que supuso un total de 26 inclusiones (55,3%), dado que como ya hemos mencionado, seis de estas pacientes fueron incluidas en dos ensayos clínicos con inhibidores de los FGFR durante la evolución de su enfermedad. Los motivos que justificaron que el resto de pacientes *FGFR1* amplificadas no fueran incluidas dentro de ensayo clínico fueron fallos de *screening* (20%), no cumplimiento de los criterios de inclusión/exclusión (40%) y decisión de la paciente (20%). Asimismo, hubo 5 pacientes de las 158 pacientes *FGFR1* no amplificadas que también se incluyeron en estudios clínicos con inhibidores de los FGFR (3,2%). Ninguna paciente con amplificación del gen del *FGFR2* fue incluida dentro de ensayo clínico.

Las inclusiones se repartieron en seis estudios clínicos:

- Lucitanib, estudio clínico fase I/II (NCT01283945): once inclusiones.
- Dovitinib, estudio clínico fase II (NCT00958971): siete inclusiones.
- Fulvestrant +/- dovitinib, estudio clínico fase II aleatorizado (NCT01528345): una inclusión.
- BGJ398, estudio clínico fase I (NCT01004224): ocho inclusiones.

- JNJ42756493, estudio clínico fase I (NCT01962532): dos inclusiones.
- Debio1347, estudio clínico fase I (NCT01948297): dos inclusiones.

La **tabla 27** resume los datos más relevantes de las pacientes incluidas en estos estudios en cuanto a toxicidad y actividad antitumoral.

Tabla 27
Resumen de las pacientes incluidas en estudios clínicos con inhibidores de los FGFR

Estudio clínico Fase I Compuesto	Pacientes incluidas	Tiempo en el estudio (semanas)	Toxicidades más relevantes¹	Mejor respuesta²	Motivo de salida del estudio
NCT01283945 Fase I Lucitanib	1 (Amplificada)	56 semanas	HTA grado 1 Aumento de AST grado 2 Proteinuria grado 2 Hipotiroidismo subclínico	Respuesta parcial	Progresión
	2 (Amplificada)	8 semanas	Proteinuria grado 3 Hipotiroidismo subclínico	Progresión	Progresión
	3 (Amplificada)	144 semanas	HTA grado 2 Hipotiroidismo subclínico	Respuesta parcial	Progresión
	4 (Amplificada)	156 semanas (Ongoing)	HTA grado 2 Hipotiroidismo subclínico Diarreas grado 3	Enfermedad estable	Ongoing
	5 (Amplificada)	10 semanas	Proteinuria grado 3 Hipotiroidismo subclínico	Progresión	Progresión
	6 (Amplificada)	28 semanas	Hipotiroidismo subclínico Náuseas/emesis grado 2	Respuesta parcial	Progresión
	7 (Amplificada)	8 semanas	HTA grado 3	Progresión	Progresión
	8 (No amplificada)	32 semanas	HTA grado 2 Hipotiroidismo subclínico Mialgias grado 2 Proteinuria grado 2	Respuesta parcial	Toxicidad
	9 (Amplificada)	9 semanas	HTA grado 2	Progresión	Progresión
	10 (Amplificada)	11 semanas	HTA grado 2 Hipotiroidismo subclínico Mialgias grado 2	Enfermedad estable	Progresión
	11 (Amplificada)	4 semanas	Astenia grado 3 Mialgias grado 2	No evaluada	Decisión de la paciente

(continúa en la página siguiente)

Tabla 27

Resumen de las pacientes incluidas en estudios clínicos con inhibidores de los FGFR
(continuación)

Estudio clínico Fase Compuesto	Pacientes incluidas	Tiempo en el estudio (semanas)	Toxicidades más relevantes ¹	Mejor respuesta ²	Motivo de salida del estudio
NCT01004224 Fase I BGJ398	1 (Amplificada)	7 semanas	Hiperfosfatemia Aumento de lipasa grado 3	No evaluada	Decisión de la paciente
	2 (Amplificada)	13 semanas	Hiperfosfatemia	Enfermedad estable	Progresión
	3 (Amplificada)	4 semanas	Hiperfosfatemia	Progresión	Progresión
	4 (Amplificada)	11 semanas	Hiperfosfatemia	Enfermedad estable	Progresión
	5 (Amplificada)	4 semanas	Hiperfosfatemia	Progresión	Progresión
	6 (Amplificada)	8 semanas	Aumento de lipasa grado 3 Hiperfosfatemia	Progresión	Progresión
	7 (Amplificada)	4 semanas	Hiperfosfatemia Elevación de creatinina grado 2	No evaluada	Toxicidad
	8 (Amplificada)	3 semanas	Queratoconjuntivitis grado 2 Hiperfosfatemia Queratoconjuntivitis grado 2	No evaluada	Toxicidad
NCT00958971 Fase II Dovitinib	1 (No amplificada)	2 semanas	Aumento de CPK grado 3	No evaluada	Decisión de la paciente
	2 (Amplificada)	8 semanas	Emesis grado 1 Astenia grado 2 Aumento de AST/ALT grado 1	Enfermedad estable	Decisión de la paciente
	3 (Amplificada)	2 semanas	Astenia grado 3 Diarreas grado 1	No evaluada	Deterioro del estado general
	4 (No amplificada)	4 semanas	Aumento de GGT grado 3	Progresión	Progresión
	5 (No amplificada)	16 semanas	Aumento de GGT grado 2	Enfermedad estable	Progresión
	6 (Amplificada)	10 semanas	Aumento de GGT grado 2	Enfermedad estable	Progresión
	7 (No amplificada)	2 semanas	Aumento de GGT grado 4 Aumento de AST/ALT grado 3	No evaluada	Toxicidad
NCT01528345 Fase II Fulvestrant +/- dovitinib	1 (Amplificada)	20 semanas	Ninguna (recibió placebo)	Enfermedad estable	Progresión

(continúa en la página siguiente)

Tabla 27

Resumen de las pacientes incluidas en estudios clínicos con inhibidores de los FGFR
(continuación)

Estudio clínico Fase Compuesto	Pacientes incluidas	Tiempo en el estudio (semanas)	Toxicidades más relevantes¹	Mejor respuesta²	Motivo de salida del estudio
NCT01948297	1 (Amplificada)	4 semanas	Ninguna	Progresión	Progresión
Fase I Debio1347	2 (Amplificada)	4 semanas	Hiperfosfatemia	Progresión	Progresión
NCT01962532	1 (Amplificada)	8 semanas	Hiperfosfatemia Aumento de CPK grado 2	Progresión	Progresión
Fase 1 JNJ42756493	2 (Amplificada)	2 semanas (Ongoing)	Ninguna	No evaluada	Ongoing

ALT: alanina aminotransferasa; AST: aspartato aminotransferasa; CPK: creatinfosfoquinasa; GGT: gamma-glutamyl transpeptidasa; HTA: hipertensión arterial; .

¹ Según los criterios terminológicos comunes de acontecimientos adversos (CTCAE) versiones 3.0 y 4.0 [193, 194].

² Según los criterios de respuesta RECIST versiones 1.0 y 1.1 [195, 196].

9. Discusión

En nuestro trabajo, la amplificación del gen del *FGFR1* se ha determinado en 205 pacientes con cáncer de mama metastásico, una cifra similar a la encontrada en otras series en las que se han incluido exclusivamente pacientes con enfermedad metastásica, como el estudio SAFIR01 (n = 297) o el subanálisis de biomarcadores del estudio BOLERO-2 (n = 227). Por el contrario, la amplificación del gen del *FGFR2* se ha realizado tan solo en 67 pacientes con cáncer de mama metastásico, una cifra inferior a la publicada en otros trabajos, como el subanálisis de biomarcadores del estudio BOLERO-2 o el estudio de Turner y cols., aunque en este último no se especifica el porcentaje de pacientes con cáncer de mama metastásico [164, 185, 186]. Por lo tanto, el número de pacientes incluidas en nuestro trabajo da consistencia a los resultados procedentes del análisis de la amplificación del gen del *FGFR1*. Sin embargo, las conclusiones derivadas del análisis de la amplificación del gen del *FGFR2* deben interpretarse con mayor prudencia considerando el número de pacientes analizadas.

Por otro lado, el carácter retrospectivo de este trabajo hace que los resultados obtenidos se tengan que valorar con mucha cautela, independientemente del número de pacientes incluidas, debido a la probable existencia de sesgos (como factores de confusión no controlados o sesgos de selección o de información, entre otros). Otra de las limitaciones de estos estudios reside en la falta de control que en ocasiones puede encontrarse durante la búsqueda de información en los expedientes clínicos de las pacientes incluidas en el estudio. No obstante, es destacable que algunos de los resultados obtenidos sean superponibles a los de otros estudios publicados en la literatura y que posteriormente serán discutidos de una manera más detallada.

Finalmente, en este trabajo se han analizado aspectos previamente no evaluados, como el papel de la polisomía de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* en ausencia de amplificación de ambos genes, la concordancia en el estado del *FGFR1* y del *FGFR2* entre el tumor primario y la localización metastásica y la importancia de un programa de *pre-screening* molecular en la inclusión de pacientes en estudios clínicos con inhibidores de los FGFR, y todo ello da un mayor impacto a las conclusiones derivadas de nuestro trabajo.

9.1. Incidencia de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* en nuestra población de pacientes con cáncer de mama metastásico

Diferentes porcentajes de amplificación del gen del *FGFR1* han sido comunicados en la literatura científica durante los últimos años, aunque de forma generalizada se ha establecido que la región cromosómica 8p11-12 que contiene el locus del gen del *FGFR1* está amplificada en alrededor de un 10% de las pacientes con cáncer de mama, principalmente en tumores con expresión de receptores hormonales y negatividad del receptor HER2 [152, 159]. Sin embargo, series más recientes han mostrado una incidencia de amplificación del gen del *FGFR1* de hasta el 18,1% en pacientes con cáncer de mama hormonosensible [185]. Estas diferencias, aunque podrían estar en relación con el método de determinación utilizado, es probable que también estén relacionadas con la población de pacientes incluida en cada estudio.

Así, en el estudio de Elsheikh y cols., la amplificación del gen fue determinada mediante CISH y definida como la presencia de más de un 50% de células tumorales con más de cinco copias del gen o grandes *clusters* del gen [159]. En este estudio se incluyeron principalmente pacientes sin enfermedad metastásica (83% del total) y estaban representados todos los subtipos moleculares (el 76,3% correspondían al subtipo luminal), con una incidencia global de amplificación del gen del *FGFR1* del 8,7%, y del 5,5%, 7,7% y 8,6% en los subtipos basal, HER2-positivo y luminal, respectivamente. Por el contrario, en el subanálisis de biomarcadores del estudio BOLERO-2 se utilizó una plataforma de NGS con una captura de las regiones de interés, y la amplificación del gen del *FGFR1* se definió como la presencia de un número de copias del gen del *FGFR1* mayor o igual a seis [185]. En este análisis se incluyeron exclusivamente pacientes con enfermedad avanzada, con positividad del RE y con ausencia de sobreexpresión del HER2, con una incidencia de amplificación del gen del *FGFR1* del 18,1%, más del doble de la publicada por Elsheikh y cols. De una manera similar al subanálisis de biomarcadores del estudio BOLERO-2, el análisis del TCGA, en el que se incluyeron pacientes con y sin enfermedad metastásica en el que estaban incluidos una vez más todos los subtipos moleculares (el 66,6% correspondía al subtipo luminal), utilizó una plataforma de NGS con una captura de todo el exoma, y la amplificación del gen del *FGFR1* se definió como la presencia de un número de copias del gen del *FGFR1* mayor o igual a cuatro. De forma global, la incidencia de amplificación del gen del *FGFR1* fue del

11%, y fue del 6%, 3% y 13% en los subtipos basal, HER2-enriched y luminal determinados por PAM50, respectivamente [152]. Finalmente, en el estudio SAFIR01 de André y cols., un 13% de las pacientes, todas con enfermedad avanzada, presentaron amplificación del gen del *FGFR1* analizada por hibridación genómica comparada [186].

En nuestro trabajo, la determinación de la amplificación del gen del *FGFR1* se ha llevado a cabo mediante FISH usando la sonda *ZytoLight® SPEC FGFR1/centrómero 8 Dual Color Probe* de Zytovision con referencia Z-2072-200 y se ha definido como paciente *FGFR1* amplificada a aquella cuyo tumor presentaba una *ratio FGFR1/centrómero 8* mayor o igual a 2,2 o un número de copias del gen del *FGFR1* mayor o igual a seis. Este trabajo es el primero en la literatura científica en publicar la incidencia de la amplificación del gen del *FGFR1* mediante FISH, que representa la técnica más utilizada en la actualidad en los estudios clínicos con los inhibidores de los FGFR. La elección de esta sonda se ha establecido tomando como base la experiencia de nuestros patólogos con otras sondas similares cuyas señales eran más débiles y de interpretación más difícil. Con este método se ha obtenido una incidencia de amplificación del gen del *FGFR1* del 22,9% en el total de pacientes incluidas, una cifra superior a la notificada por otras series en la literatura; llama especialmente la atención la diferencia con respecto al 8,7% comunicado por Elsheikh y cols. utilizando también un test de ISH.

Por subtipos moleculares, el 18,6%, el 22,9%, el 23,1%, el 13,6% y el 16,7% de los tumores con subtipo luminal A, luminal B, basal, luminal HER2-positivo y HER2-positivo no luminal han presentado amplificación del gen, respectivamente; el 24,5% (37/151), el 23,1% (6/26) y el 14,3% (4/28) agrupándolos en los subgrupos luminal, basal y HER2-positivo.

Independientemente del método utilizado para realizar la determinación, FISH en nuestro trabajo (22,9%), CISH en el estudio de Elsheikh y cols. (8,7%), hibridación genómica comparada en el estudio SAFIR01 (13%) y NGS en los análisis del TCGA (11%) y del estudio BOLERO-2 (18,1%), en nuestros resultados también puede haber influido un sesgo de selección, dado que las pacientes de nuestro trabajo procedían de una base de datos generada a partir de un programa de *pre-screening* molecular. En este programa de *pre-screening* molecular, que incluía exclusivamente a pacientes con enfermedad avanzada, no se solicitaban las mismas determinaciones a todas las pacientes, sino que a cada paciente se le realizaba el análisis molecular que cada médico responsable consideraba oportuno. De este modo, se justifica que más del 70% de las pacientes a las

que se les ha realizado en nuestro trabajo la determinación de la amplificación del gen del *FGFR1* pertenezcan al subtipo luminal. Los resultados en este subgrupo de pacientes son similares a los publicados en el subanálisis de biomarcadores del estudio BOLERO-2, a pesar de las diferencias en el método de determinación utilizado [185]. Sin embargo, se debe destacar que en nuestro trabajo la incidencia de amplificación del gen del *FGFR1* en los subtipos basal y HER2-positivo, a pesar de que el número de pacientes incluidas con ambos subtipos es limitado, ha sido superior a la publicada tanto por el análisis del TCGA como por el estudio de Elsheikh y cols. [152, 159], aunque más cercana en tumores HER2-positivos al 9,2% y el 13,1% obtenidos en los subanálisis de biomarcadores de los estudios BOLERO-1 y BOLERO-3, respectivamente [201]. Por todo esto, estos resultados deberían ser confirmados *a posteriori* en un mayor número de pacientes.

En cuanto al estado de la amplificación del gen del *FGFR2*, se ha analizado en un menor número de pacientes (32,7% del total) debido a que el *pre-screening* de esta alteración molecular se inició dos años más tarde que el *pre-screening* de la amplificación del gen del *FGFR1* a raíz de la llegada de los estudios clínicos con inhibidores selectivos de los FGFR. La determinación se ha llevado a cabo también mediante FISH utilizando la sonda *ZytoLight® SPEC FGFR2/centrómero 10 Dual Color Probe* de Zytovision con referencia Z-2122-200, y se definió como paciente *FGFR2* amplificada a aquella cuyo tumor presentaba una ratio *FGFR2/centrómero 10* mayor o igual a 2,2 o un número de copias del gen del *FGFR2* mayor o igual a seis. El uso de esta sonda ha seguido los mismos criterios que para la elección de la sonda para determinar el estado del *FGFR1*. Con este método se ha obtenido una incidencia de amplificación del gen del *FGFR2* del 4,5% en el total de pacientes incluidas. Por subtipos moleculares, el 5,6% (1/19) y el 25% (2/8) de los tumores con subtipo luminal A y basal han sido *FGFR2* amplificados, respectivamente, sin que se haya detectado ningún tumor luminal B o HER2-positivo con amplificación del gen del *FGFR2*. Además, llama la atención que solamente ocho de las 67 pacientes a las que se les ha analizado el estado del *FGFR2* presentarían tumores con subtipo basal, considerando que la amplificación del gen del *FGFR2* se trataba de una alteración molecular de escasa incidencia y predominantemente comunicada en este subtipo molecular.

A pesar del pequeño número de pacientes *FGFR2* amplificadas identificadas en nuestro trabajo, en la literatura se ha publicado una incidencia de amplificación del gen del *FGFR2* similar a la nuestra. En el análisis del TCGA, la incidencia de amplificación del

gen del *FGFR2* fue de alrededor del 2%, y del 4%, 3% y 2% en los subtipos basal, HER2-*enriched* y luminal determinados por PAM50, respectivamente [152]. En otro trabajo publicado por Turner y cols. se realizó un análisis molecular de tumores de mama mediante hibridación genómica comparada, y se notificó una amplificación del gen del *FGFR2* en hasta un 4% de los tumores triple-negativos (6/165), pero sin evidenciarse ninguna paciente amplificada dentro de los otros subtipos analizados (0/214) [164]. Por el contrario, en el subanálisis de biomarcadores del estudio BOLERO-2, un 1,5% de las pacientes, todas con subtipo luminal, presentaron amplificación del gen del *FGFR2* [185], y en el estudio fase II con dovitinib de André y cols. también se identificaron dos pacientes con amplificación del gen del *FGFR2* determinada por medio de qPCR dentro de las 57 pacientes con positividad de receptores hormonales incluidas en el estudio (3,5%), y otras dos pacientes *FGFR2* amplificadas dentro de las 24 pacientes incluidas con cáncer de mama triple-negativo (8,33%). El total de pacientes *FGFR2* amplificadas en este estudio fue del 4,9% [170].

Nuestros datos, por lo tanto, son consistentes con respecto a la incidencia global de la amplificación del gen del *FGFR2*, y es el primer trabajo que a nuestro conocimiento ha publicado la incidencia de amplificación del gen del *FGFR2* mediante un test de ISH. Sin embargo, los resultados en cuanto a la distribución de la amplificación de este gen en función del subtipo molecular son muy limitados teniendo en cuenta el número de pacientes *FGFR2* amplificadas detectadas en nuestro trabajo. Aun así, es importante señalar que en nuestra serie se ha objetivado un 25% de pacientes con tumores basales que amplificaban este gen. No obstante, tan solo se realizó la determinación en ocho pacientes con este subtipo molecular, por lo que no podemos más que describir este dato, sin hacer ninguna valoración analítica.

Por otro lado, y a diferencia de los datos reportados por Turner y cols. [164], en nuestro trabajo se ha notificado esta alteración molecular en una paciente con un tumor luminal, hecho que también se ha evidenciado en el análisis del TCGA o en el estudio clínico de André y cols. con dovitinib [152, 170]. Por todo esto, esta alteración molecular no parece ser exclusiva del subtipo basal/triple-negativo como se había descrito inicialmente.

9.2. Concordancia entre el estado de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2*

Existe escasa evidencia en la literatura científica acerca de la concordancia entre el estado de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2*. En el análisis del TCGA ninguna paciente presentó la coamplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* [152]. Lo mismo sucedió en el estudio clínico con dovitinib de André y cols., en el que ninguna de las veinticinco pacientes con amplificación del gen del *FGFR1* presentó amplificación del gen del *FGFR2* determinada por qPCR [170].

En nuestro trabajo se ha analizado el estado de la amplificación del gen del *FGFR2* en 10 de las 47 pacientes *FGFR1* amplificadas (21,3%); de ellas, una paciente presentó de forma concomitante amplificación del gen del *FGFR2* (10%). En cuanto a las 158 pacientes *FGFR1* no amplificadas, el estado de la amplificación del gen del *FGFR2* se ha analizado en 57 pacientes (36,1%), dos de las cuales han presentado amplificación del gen del *FGFR2* (3,5%).

Estos datos, tan limitados por el número de pacientes analizadas, no permiten extraer ninguna conclusión en firme, pero podrían sugerir una mayor incidencia de amplificación del gen del *FGFR2* en pacientes *FGFR1* amplificadas. La importancia de este hallazgo es desconocida y podría ser interesante evaluarlo en una cohorte de pacientes mayor con el objetivo de valorar tanto su implicación pronóstica como terapéutica.

Por lo tanto, teniendo en cuenta los resultados del análisis del TCGA y del estudio clínico de André y cols., la coamplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* parecía ser un evento mutuamente excluyente. Sin embargo, la presencia en nuestro trabajo de una paciente con la amplificación de ambos genes determinada por FISH, a diferencia del análisis del TCGA y del estudio de André y cols., en los que el estado del *FGFR2* se determinó mediante NGS y qPCR, respectivamente, nos impide confirmar que la coamplificación de ambos genes sea mutuamente excluyente. Además, es destacable señalar que la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* que presentaba esta paciente se ha observado tanto en el tumor primario como en la localización metastásica.

9.3. Correlación entre la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* con las características clínico-patológicas

En nuestro trabajo no se ha podido establecer una asociación significativa entre el estado de la amplificación del gen del *FGFR1* y la mayor parte de las características clínico-patológicas evaluadas, y se han observado solamente diferencias en cuanto a la edad ($p = 0,003$) y el estado menopáusico, ya que con mayor frecuencia las pacientes *FGFR1* amplificadas eran premenopáusicas ($p = 0,037$).

En la literatura científica, la amplificación del gen del *FGFR1* se ha asociado a tumores con menor expresión del RP y con una mayor capacidad proliferativa, características relacionadas con los tumores luminales B [171]. Sin embargo, en nuestro trabajo no se han observado diferencias estadísticamente significativas en cuanto al valor del índice proliferativo Ki67, al estado del RP y a la distribución por subtipos moleculares entre las pacientes *FGFR1* amplificadas y no amplificadas. Así, el 31,9% y el 34,2% de las pacientes *FGFR1* amplificadas y no amplificadas presentaban tumores sin expresión del RP, el valor del índice proliferativo Ki67 del 64% y 52% de las pacientes *FGFR1* amplificadas y no amplificadas era mayor del 20%, y el mismo porcentaje de pacientes *FGFR1* amplificadas y no amplificadas presentaban tumores con subtipo luminal B (23,4%). Asimismo, este porcentaje es similar al obtenido en pacientes *FGFR1* amplificadas y no amplificadas con respecto al subtipo luminal A (17% y 22,2%, respectivamente).

No obstante, y a pesar de que no se aprecien diferencias estadísticamente significativas en cuanto a estos parámetros entre las pacientes *FGFR1* amplificadas y no amplificadas, sí parece observarse un mayor valor del índice proliferativo Ki67 en las pacientes *FGFR1* amplificadas. Sin embargo, el hecho de que a más del 40% de las pacientes incluidas en nuestro trabajo no se les haya determinado el valor del índice proliferativo Ki67, ha podido ser crucial a la hora de no evidenciarse diferencias ni en esta variable ni en la distribución por subtipos moleculares, donde el valor del índice proliferativo Ki67 era fundamental para dividir a los tumores luminales en luminal A y luminal B. Junto a esto, también ha podido influir el hecho de que no esté bien definido el *cut-off* del valor del índice proliferativo Ki67 y que no haya unanimidad en la definición por inmunohistoquímica de los subtipos moleculares luminal A y B.

En nuestro trabajo se ha considerado un *cut-off* > 20% para definir un valor de Ki67 alto y el subtipo luminal B, con la intención de poder discriminar mejor los subtipos luminal A y luminal B con respecto a la utilización de otros *cut-offs* previamente establecidos [23, 32]. Por el contrario, en el estudio de Turner y cols. se utilizó un *cut-off* \geq 14% para definir un valor de Ki67 alto [171]. A pesar de esto, los resultados en nuestro trabajo son similares aunque se utilicen otros *cut-offs* diferentes para definir el valor del índice proliferativo Ki67 (\geq 14%/ \geq 20%). Con respecto a la definición de los subtipos moleculares, en el estudio de Turner y cols. se establecieron mediante perfiles de expresión génica y no por medio de inmunohistoquímica como en nuestro trabajo [171]. Por todo esto, es probable que nuestros resultados hubieran sido diferentes con un mayor número de pacientes a las que se les hubiera realizado la determinación del valor del índice proliferativo Ki67, con otra definición por inmunohistoquímica de los subtipos luminal A y B, e incluso y cómo no, si se pudieran haber clasificado los subtipos moleculares por medio de perfiles de expresión génica.

En cuanto a la correlación entre la amplificación del gen del *FGFR2* con determinadas características clínico-patológicas, no se debería establecer ninguna conclusión, dado que solamente se han identificado tres pacientes *FGFR2* amplificadas en nuestro trabajo que presentaron con respecto a las pacientes no amplificadas una mayor frecuencia de negatividad del RP y del RE y una mayor asociación con el subtipo basal. No ha habido diferencias en el resto de parámetros evaluados. Estos resultados son consistentes con la mayor frecuencia de esta alteración molecular en el subtipo molecular basal publicada en la literatura científica [164].

9.4. Incidencia de la polisomía de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* en ausencia de amplificación de ambos genes y su correlación con las características clínico-patológicas

A nuestro conocimiento, la incidencia de la polisomía de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* en ausencia de amplificación de ambos genes y su correlación con determinadas características clínico-patológicas no ha sido analizada hasta el momento en pacientes con cáncer de mama metastásico. Por el contrario, la polisomía del gen del *HER2* ha sido ampliamente evaluada en pacientes con cáncer de mama, y aunque algunos autores han publicado que la polisomía del cromosoma 17 en ausencia de amplificación del gen

podría ser un factor predictivo de beneficio a terapias anti-HER2, la mayor parte de la evidencia científica disponible va en contra de esta asociación [188].

En nuestro trabajo se han identificado 28 pacientes *FGFR1* no amplificadas polisómicas (13,7%) y 12 pacientes *FGFR2* no amplificadas polisómicas de las 67 pacientes a las que se les ha analizado el estado del *FGFR2* (17,9%). A trece de las veintiocho pacientes *FGFR1* no amplificadas polisómicas también se les ha determinado el estado de la amplificación del gen del *FGFR2*, que en siete pacientes fue negativo (53,8%), en cinco pacientes negativo polisómico (38,5%) y en una paciente amplificado (7,7%). A todas las pacientes *FGFR2* no amplificadas polisómicas se les ha analizado el estado de la amplificación del gen del *FGFR1*, que en cinco pacientes fue negativo (41,7%), en cinco pacientes negativo polisómico (41,7%) y en dos pacientes amplificado (16,6%). Estos datos sugieren, por un lado, que la polisomía en ausencia de amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* es un evento relativamente frecuente en pacientes con cáncer de mama, y por otro lado, que es habitual encontrar pacientes *FGFR1* o *FGFR2* no amplificadas polisómicas con amplificación o polisomía sin amplificación del otro gen.

Con respecto a su correlación con determinadas características clínico-patológicas, no se han observado diferencias significativas entre las pacientes *FGFR1* amplificadas, *FGFR1* no amplificadas y *FGFR1* no amplificadas polisómicas en cuanto a la mayor parte de las variables evaluadas exceptuando la edad ($p = 0,001$), como consecuencia de una menor media de edad entre las pacientes *FGFR1* amplificadas.

Por el contrario, sí se han objetivado diferencias estadísticamente significativas en cuanto al estado del RE ($p = 0,009$), al estado del RP ($p = 0,001$), al valor de Ki67 ($p = 0,014$) y al subtipo molecular ($p = 0,002$) entre las pacientes *FGFR2* amplificadas, *FGFR2* no amplificadas y *FGFR2* no amplificadas polisómicas, a expensas fundamentalmente de las diferencias observadas entre las pacientes *FGFR2* no amplificadas polisómicas y las pacientes *FGFR2* no amplificadas.

La frecuencia de esta alteración en nuestro trabajo apoya investigar el papel de la polisomía de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* en ausencia de amplificación de ambos genes en pacientes con cáncer de mama metastásico, sobre todo, como factor predictivo de beneficio a los tratamientos dirigidos contra los FGFR. En este sentido, solamente hay un estudio clínico en la actualidad (NCT01202591) que esté analizando la eficacia de un

inhibidor selectivo de los FGFR (AZD4547) en combinación con tratamiento hormonal en pacientes con polisomía del gen del *FGFR1* en ausencia de amplificación [183].

9.5. Impacto pronóstico del estado del *FGFR1* y del *FGFR2*, del estado de la polisomía de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* y de la presencia de alteraciones a nivel del *FGFR*, a nivel del gen del *FGFR1* y a nivel del gen del *FGFR2*

En nuestro trabajo se ha observado una tendencia en las pacientes *FGFR1* amplificadas a presentar una peor supervivencia libre de enfermedad en el análisis univariante ($p = 0,097$ Kaplan-Meier) que no se ha podido confirmar en el modelo multivariante ($p = 0,741$), en el que en el estado ganglionar ha sido el único factor pronóstico independiente ($p = 0,012$). Previamente, Turner y cols. ya habían comunicado una asociación entre la amplificación del gen del *FGFR1* y una peor supervivencia libre de metástasis a distancia en pacientes con cáncer de mama [171]. Este *endpoint* también se ha analizado exploratoriamente en nuestro trabajo, y los resultados son superponibles a los de la supervivencia libre de enfermedad, ya que la mayor parte de las pacientes presentaron recaída de la enfermedad en forma de metástasis a distancia.

En cuanto a la supervivencia global, no se han observado diferencias significativas entre las pacientes *FGFR1* amplificadas y las pacientes *FGFR1* no amplificadas en los análisis univariante ($p = 0,555$) y multivariante ($p = 0,252$). Este resultado contrasta con el reportado por Elsheikh y cols., en el que la amplificación del gen del *FGFR1* se correlacionaba de una forma significativa con una peor supervivencia global, fundamentalmente en las pacientes con tumores con expresión de receptores hormonales [159]. Sin embargo, nuestros resultados no han sido diferentes al analizar exclusivamente a las pacientes con tumores RE-positivos, con expresión de receptores hormonales (RE y/o RP) o con subtipo molecular luminal. Diferentes motivos podrían explicar esta discordancia, aunque como ya hemos mencionado previamente, en el estudio de Elsheikh y cols. solamente se incluyeron un 17% de pacientes con enfermedad avanzada y la tasa de amplificación del gen del *FGFR1* fue muy inferior a la observada en nuestra serie (8,7% *versus* 22,9%). Por lo tanto, las diferencias encontradas entre nuestro trabajo y el de Elsheikh y cols. justifican evaluar el impacto pronóstico de la amplificación de este gen en otras series más similares a la nuestra,

como podría ser el estudio clínico BOLERO-2, en el que todas las pacientes incluidas presentaban enfermedad avanzada y en el que la tasa de amplificación del gen del *FGFR1* era similar a la obtenida en nuestra serie (18,1% versus 22,9%) [185]. Los resultados procedentes de este análisis serían más comparables a los que hemos obtenido en nuestro trabajo; desgraciadamente, el papel pronóstico del estado del *FGFR1* en el estudio BOLERO-2 no ha sido analizado. Asimismo, en nuestro trabajo tampoco se han evidenciado diferencias significativas en la supervivencia global en función del estado del *FGFR1* en las pacientes con tumores triple-negativos o HER2-positivos, aunque el número de pacientes con ambos subtipos es limitado para establecer conclusiones definitivas.

Más llamativo ha sido el resultado del tiempo libre de progresión de la primera línea de tratamiento hormonal en pacientes que previamente no habían recibido ningún tratamiento en el contexto de la enfermedad avanzada, que fue significativamente inferior en las pacientes con amplificación del gen del *FGFR1* con respecto a las pacientes *FGFR1* no amplificadas ($p = 0,039$). Con este *endpoint* se ha tenido la intención de evaluar la posible resistencia al tratamiento hormonal que presentan los tumores con una mayor activación de esta vía, y aunque el número de pacientes es limitado, apoya junto con la evidencia preclínica disponible a investigar la combinación de inhibidores de los FGFR con terapia endocrina en pacientes con cáncer de mama metastásico con expresión de los receptores hormonales [171]. Quedaría por aclarar por qué estos hallazgos no se acompañan de diferencias en la supervivencia global y en la supervivencia libre de enfermedad entre las pacientes *FGFR1* amplificadas y las pacientes *FGFR1* no amplificadas con expresión del RE.

En relación con el estado del *FGFR2* no se han observado diferencias significativas entre las pacientes *FGFR2* amplificadas y las pacientes *FGFR2* no amplificadas en cuanto a la supervivencia libre de enfermedad en los análisis univariante ($p = 0,201$) y multivariante ($p = 0,133$), pero sí con respecto a la supervivencia global tanto en el análisis univariante ($p = 0,021$) como en el modelo multivariante ($p = 0,019$), de modo que las pacientes sin amplificación del gen del *FGFR2* presentan alrededor de un 80% menos de riesgo de muerte que las pacientes *FGFR2* amplificadas. No obstante, a pesar de que este es el primer trabajo en la literatura científica en el que se ha obtenido este resultado utilizando un test de ISH, se debe remarcar que tan solo se han identificado tres pacientes amplificadas. Por este motivo sería interesante evaluar estos hallazgos en una cohorte de pacientes mayor, en la que la determinación de la amplificación del gen del *FGFR2* se

realice mediante FISH con el fin de confirmar estos resultados. En relación con el método de análisis utilizado, un aumento de la expresión del *FGFR2* detectada por inmunohistoquímica sí se ha asociado con una peor supervivencia global y una peor supervivencia libre de enfermedad en pacientes con cáncer de mama [172]. Sin embargo, hay que destacar que en esta serie, más de un 60% de las pacientes incluidas presentaban expresión citoplasmática o nuclear del *FGFR2*, un porcentaje muy superior a la amplificación del gen del *FGFR2* determinada mediante NGS, hibridación genómica comparada, FISH o qPCR.

En la misma dirección que con el estado del *FGFR2*, en el análisis univariante también se ha observado de forma estadísticamente significativa una peor supervivencia global en las pacientes con polisomía del gen del *FGFR2* en ausencia de amplificación del gen con respecto a las pacientes *FGFR2* no amplificadas no polisómicas ($p = 0,008$), así como una tendencia a una peor supervivencia libre de enfermedad en las pacientes *FGFR2* no amplificadas polisómicas ($p = 0,084$). A pesar de esto, la presencia de alteraciones a nivel del gen del *FGFR2*, en forma de amplificación y/o polisomía, no ha alcanzado la significación estadística en los modelos multivariantes de supervivencia libre de enfermedad ($p = 0,138$) y de supervivencia global ($p = 0,098$) pese a aumentar discretamente el número de pacientes con alteraciones en este gen. Sin embargo, este hecho, junto a la frecuencia de esta alteración descrita anteriormente, justifica evaluar también la polisomía del gen del *FGFR2* en ausencia de amplificación del gen no solo como factor predictivo de beneficio a los tratamientos dirigidos contra los FGFR, sino también como factor pronóstico en una cohorte de pacientes mayor.

Finalmente, no se han observado diferencias significativas en los análisis univariante y multivariante ni en la supervivencia libre de enfermedad ni en la supervivencia global en las pacientes con polisomía del gen del *FGFR1* en ausencia de amplificación del gen con respecto a las pacientes *FGFR1* no amplificadas no polisómicas y las pacientes *FGFR1* amplificadas, ni tampoco en función de la presencia de alteraciones a nivel del gen *FGFR1* o de forma global a nivel del *FGFR*. En este punto se debe volver a insistir en el limitado número de pacientes a las que se les ha analizado el estado del *FGFR2* en nuestro trabajo, y se podrían haber obtenido unos resultados diferentes en cuanto a la presencia o no de alteraciones a nivel del *FGFR* si se hubiera testado un mayor número de pacientes para la amplificación de este gen, favoreciéndose de esta manera la identificación de más pacientes *FGFR2* amplificadas y *FGFR2* polisómicas no amplificadas.

9.6. Asociación entre la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* con otras alteraciones moleculares

En 73 pacientes incluidas en nuestro trabajo (35,6% del total) se ha llevado a cabo un análisis adicional para detectar la presencia de otras alteraciones moleculares existentes en el tumor. La mayor parte de estas pacientes han sido analizadas mediante Sequenom MassARRAY®, utilizando la OncoCarta versión 1.0 junto con un panel adicional generado en nuestro centro.

La alteración molecular más frecuentemente detectada en el total de pacientes analizadas ha sido la mutación en *PIK3CA* (27,4%), cifra que se acerca a la publicada de forma global en el análisis del TCGA (36%) [152]. Este resultado es esperable teniendo en cuenta tanto el método de determinación utilizado, como que más del 70% de las pacientes incluidas en nuestro trabajo pertenecen al subtipo luminal, en el cual, la mutación en *PIK3CA* también es la mutación más frecuentemente identificada en el análisis del TCGA, con una incidencia del 45%.

En las quince pacientes *FGFR1* amplificadas a las que se les ha realizado este análisis molecular adicional, la mutación en *PIK3CA* también ha sido la mutación más predominante (20%). Este dato, aunque limitado por el número de pacientes, es muy superior al porcentaje de pacientes con la doble alteración reportado en el análisis del TCGA y en el subanálisis de biomarcadores del estudio BOLERO-2, donde alcanzó el 1,9% y el 6,6%, respectivamente [152, 185]. En estos dos estudios, aunque la frecuencia de mutación en *PIK3CA* fue superior a la de nuestro estudio, 36% y 47,6%, respectivamente, la tasa de amplificación del gen del *FGFR1* fue inferior, como ya hemos descrito previamente, lo que podría justificar en parte los resultados de nuestro estudio.

En cuanto al tipo de mutación en *PIK3CA* identificada, la H1047R y la E545K han sido las más prevalentes en el global de las pacientes, mientras que en las tres pacientes *FGFR1* amplificadas, una ha presentado la H1047R, otra la H1047L y otra la N345K. En el análisis del TCGA también se identificaron este tipo de mutaciones entre las pacientes *FGFR1* amplificadas (H1047R, H1047L, N345K), así como otras mutaciones como la E545K, la N345T y la G118D [152]. Tomando como base estos hallazgos, no parece que la amplificación del gen del *FGFR1* se asocie de forma específica a un determinado tipo de mutación en *PIK3CA*.

Asimismo, se han detectado de forma limitada otras alteraciones moleculares diferentes a la mutación en *PIK3CA*. En dos pacientes, una con y otra sin amplificación del gen del *FGFR1*, se ha detectado una mutación en *AKT1* (E17K), en una paciente *FGFR1* no amplificada y con mutación en *PIK3CA* también se ha detectado una mutación en *KRAS* (G12V), y en otra paciente *FGFR1* amplificada se ha detectado una mutación en *EGFR* (F712L) junto con una mutación en *TP53* (R248W). Como es lógico, la detección de otras alteraciones moleculares está muy limitada por la tecnología utilizada en nuestro trabajo, ya que en el análisis del TCGA es muy frecuente encontrar otras alteraciones moleculares en pacientes *FGFR1* amplificadas y no amplificadas diferentes a la mutación en *PIK3CA*.

En cuanto a las pacientes *FGFR2* amplificadas, solamente se realizó el análisis en una única paciente, que resultó ser *wild-type*. Aun así, en el subanálisis de biomarcadores del estudio BOLERO-2 una de las tres pacientes *FGFR2* amplificadas detectadas presentaba también una mutación en *PIK3CA*, por lo que no se puede descartar una asociación de la amplificación del gen del *FGFR2* con otras alteraciones moleculares [185].

Estos resultados confirman la importancia de evaluar en estudios clínicos la combinación de tratamientos dirigidos. En el estudio BOLERO-2, el beneficio de everolimus fue menor en las pacientes con amplificación del gen del *FGFR1* o del gen del *FGFR2* [185], hecho que también se ha evidenciado a nivel preclínico en líneas celulares de cáncer de mama con mutación en *PIK3CA* en las que la eficacia del tratamiento con inhibidores de PI3K se vio limitada por la activación de la vía de señalización del FGFR/FGF, así como en *xenografts* de cáncer de vejiga y cáncer de endometrio en los que se ha confirmado un efecto antitumoral sinérgico al bloquear simultáneamente ambas vías [202]. Estos datos justifican el bloqueo dual de ambas vías de señalización estando en marcha actualmente un estudio fase I (CBGJ398X2102, NCT01928459) en el que se combina el BGJ398 con el BYL719, un inhibidor alfa específico de PI3K, en pacientes con mutación *PIK3CA* y alteración a nivel del los FGFRs [187]. Asimismo, el desarrollo de mejores técnicas de análisis genómico propiciará en los próximos años la identificación de nuevas alteraciones moleculares asociadas a la alteración de la vía de señalización del FGFR/FGF justificándose de este modo el diseño de estudios clínicos basados en nuevas estrategias de combinación.

9.7. Concordancia en el estado de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* entre el tumor primario y las metástasis

La concordancia de un determinado biomarcador durante la progresión del cáncer de mama ha sido ampliamente comprobada, tanto de forma retrospectiva como prospectiva, con el RE, el RP y el HER2, y se han observado variaciones en el estado de todos ellos con diferente frecuencia, de las cuales la más habitual es la negativización del RP en la localización metastásica. Estas discordancias pueden llevar a cambios en la decisión terapéutica en hasta un 20% de las pacientes [124]; sin embargo, no está bien definido si la discordancia en estos receptores y los cambios que implica a nivel terapéutico tienen un impacto en el pronóstico de las pacientes [203].

Hasta el momento, solamente Brunello y cols. habían analizado la concordancia en el estado de la amplificación del gen del *FGFR1* entre el tumor primario y las metástasis en quince pacientes con carcinoma lobulillar de mama [189]. Tres de estas pacientes eran *FGFR1* amplificadas mediante CISH, con una concordancia del 100% en el estado del *FGFR1* entre el tumor primario y la localización metastásica. Entre las pacientes *FGFR1* no amplificadas tampoco se observó ninguna discrepancia en el estado del *FGFR1* entre el tumor primario y las metástasis.

En nuestro trabajo, a diferencia del estudio de Brunello y cols., quince de las dieciséis pacientes incluidas con muestras pareadas presentaban como subtipo tumoral el carcinoma ductal infiltrante, con una concordancia global del estado de la amplificación del gen del *FGFR1* entre el tumor primario y la localización metastásica del 87.5%.

En cuanto a las ocho pacientes con amplificación del gen del *FGFR1* en el tumor primario, se ha confirmado una concordancia en el estado de la amplificación del gen del *FGFR1* entre el tumor primario y las metástasis en siete pacientes (87,5%), y el estado de la amplificación del gen del *FGFR1* ha sido discordante en una paciente. Esta paciente, la número 4 de la tabla 24, tiene una amplificación del gen del *FGFR1* en el tumor primario, y es *FGFR1* no amplificada en la localización metastásica. En ambas muestras llama la atención la presencia de una polisomía del cromosoma 11, cuya *ratio* alcanza un valor positivo solamente en el tumor primario. Por lo tanto, en esta paciente el estado del gen del *FGFR1* sigue siendo similar en ambas muestras, aunque la *ratio* se haya negativizado en la localización metastásica.

Con respecto a las ocho pacientes sin amplificación del gen del *FGFR1* en el tumor primario, se ha confirmado una concordancia entre el tumor primario y las metástasis en siete pacientes (87,5%), y el estado de la amplificación del gen del *FGFR1* también ha sido discordante en una paciente. Esta paciente, la número 6 de la tabla 24, no presenta amplificación del gen del *FGFR1* en el tumor primario, y es claramente *FGFR1* amplificada en la localización metastásica. El caso de esta paciente destaca con respecto a los demás dado que inicialmente fue intervenida quirúrgicamente en agosto de 2010 mediante cirugía conservadora de una neoplasia de mama izquierda. El resultado anatomopatológico fue compatible con un carcinoma ductal infiltrante grado histológico 3, con RE y RP positivos (score 270; 90% de células con expresión), HER2-negativo y un valor de Ki67 del 30%. Tras realizar tratamiento adyuvante con quimioterapia basada en antraciclinas y taxanos, radioterapia y hormonoterapia, presentó una recidiva supraclavicular izquierda dos años más tarde. La biopsia de esta recidiva fue compatible con un carcinoma ductal infiltrante grado histológico 3, triple-negativo, con un valor de Ki67 del 70%. A pesar de que se sospechó que fuera un segundo primario por el cambio tan evidente en la inmunohistoquímica del tumor, no se pudo confirmar. Por todo esto, la discordancia del estado de la amplificación del gen del *FGFR1* de esta paciente podría deberse a que no se tratara de una recidiva, sino que fueran dos tumores totalmente diferentes. Además, hay que enfatizar que la amplificación del gen del *FGFR1* ocurre en la muestra del tumor triple-negativo y no en la muestra con positividad de receptores hormonales.

En cuanto a la concordancia en el estado de la amplificación del gen del *FGFR2* entre el tumor primario y las metástasis, se han identificado trece pacientes con muestras pareadas a las que se les ha analizado el estado del *FGFR2*, y se ha observado una concordancia global en el estado de la amplificación del gen del *FGFR2* entre el tumor primario y la localización metastásica del 100%. De las trece pacientes analizadas, dos presentaban amplificación del gen del *FGFR2* en el tumor primario y el resto eran pacientes *FGFR2* no amplificadas.

A pesar de que solamente se han analizado dos pacientes con amplificación del gen del *FGFR2*, la concordancia observada tanto en estas pacientes como en las pacientes *FGFR2* no amplificadas, da solidez a los resultados obtenidos, y este trabajo es el primero en la literatura científica que, a nuestro conocimiento, ha evaluado la correlación

en el estado de la amplificación del gen del *FGFR2* entre el tumor primario y las metástasis.

Estos resultados tienen una importante relevancia clínica, sobre todo teniendo en cuenta el probable papel predictivo que el estado de la amplificación del gen del *FGFR1* y del gen del *FGFR2* podría tener en cuanto al beneficio a los tratamientos dirigidos contra los FGFR, ya que sugieren que la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* es un evento estable en la evolución del cáncer de mama. De esta forma, no sería necesario llevar a cabo una biopsia de la enfermedad metastásica para retestar el estado de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* en pacientes con cáncer de mama, independientemente del subtipo histológico. En relación con esto, en el estudio fase II FINESSE (NCT02053636) es obligatorio determinar el estado del *FGFR1* y del amplicón 11q en la biopsia procedente de la localización metastásica, lo que puede llevar a limitar la inclusión de pacientes en el estudio sin enfermedad metastásica biopsiable.

Además, estos resultados apoyan la consistencia de nuestras conclusiones, ya que todas las pacientes incluidas en nuestro trabajo presentaban enfermedad avanzada, mientras que la determinación de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* se ha realizado mayoritariamente en la biopsia del tumor primario.

9.8. Importancia de un programa de *pre-screening* molecular en la inclusión de pacientes en estudios clínicos con inhibidores de los FGFR

En la literatura científica, diversos grupos han comunicado la importancia de los programas de *pre-screening* molecular y su impacto en la inclusión de pacientes en estudios clínicos por una alteración molecular específica. De ellos, el más importante es el estudio SAFIR01 publicado por André y cols. [186]. El objetivo primario de este estudio era incluir al menos a un 30% de pacientes en ensayo clínico usando un programa de *pre-screening* molecular. Para ello, se analizaban exclusivamente biopsias procedentes de la localización metastásica a diferencia de nuestro trabajo, en el que las biopsias podían proceder tanto del tumor primario como de las metástasis.

En este estudio se incluyeron 423 pacientes, de las que finalmente se pudo realizar el análisis molecular en 297 pacientes (60.2%). El análisis molecular consistió en hibridación genómica comparada y en secuenciar mediante el método de SANGER los exones 10 y 21 de *PIK3CA* y el exón 4 de *AKT1*. De las pacientes analizadas, 195 (65,6%) presentaron alguna alteración molecular tributaria de tratamiento con terapia dirigida dentro de estudio clínico, entre las que destacaban la mutación en *PIK3CA*, la amplificación del gen *CCND1* y la amplificación del gen del *FGFR1* en el 25%, 19% y 13% de las pacientes analizadas, respectivamente. En este estudio se incluyeron 55 pacientes del total de pacientes analizadas en ensayos clínicos (18,5%), y los autores concluyeron que el tratamiento personalizado en pacientes con cáncer de mama metastásico era factible, aunque el estudio no alcanzó el objetivo primario establecido inicialmente.

En nuestro trabajo, solamente en un 32,2% de las pacientes se ha identificado alguna alteración molecular tributaria de tratamiento con terapia dirigida dentro de ensayo clínico. Este porcentaje es inferior al publicado por André y cols., aunque en nuestro trabajo no se han incluido algunas de las alteraciones moleculares consideradas accionables en este estudio, como la amplificación del gen *CCND1* o la mutación en *AKT1*, y solamente se ha realizado el estudio molecular adicional para detectar la presencia de otras alteraciones moleculares y el análisis del estado del *FGFR2* en alrededor de la tercera parte de las pacientes incluidas.

Por otro lado, un total de 25 de las 205 pacientes incluidas han sido tratadas con inhibidores de los FGFR dentro de ensayo clínico (12,2%). Además, de estas pacientes, seis han sido incluidas en dos estudios clínicos diferentes durante la evolución de su enfermedad, por lo que el número total de inclusiones en ensayos clínicos con inhibidores de los FGFR ha sido de 31 (15,1%). Esta cifra es ligeramente inferior al 18,5% publicado por André y cols., pero muy significativa teniendo en cuenta que solamente hemos analizado las pacientes incluidas en estudios clínicos con inhibidores de los FGFR. Además, si consideramos exclusivamente a las pacientes *FGFR1* amplificadas, veinte fueron incluidas en estudios clínicos con inhibidores de los FGFRs (42,1%), lo que supone un total de veintiséis inclusiones (55,3%) por las pacientes que fueron incluidas en dos ensayos clínicos con inhibidores de los FGFR durante la evolución de su enfermedad. Asimismo, ha habido 5 pacientes de las 158 pacientes *FGFR1* no amplificadas que también han sido incluidas en estudios clínicos con inhibidores de los FGFR (3,2%).

Estos resultados confirman la importancia de un programa de *pre-screening* molecular en la inclusión de pacientes en estudios clínicos con inhibidores de los FGFR, y destaca sobre todo que prácticamente la mitad de las pacientes *FGFR1* amplificadas fueron incluidas en ensayos clínicos con inhibidores de esta vía. Estos hallazgos se han visto claramente favorecidos por tener disponibles en nuestra unidad múltiples estudios clínicos con inhibidores de los FGFR.

En cuanto a la actividad y seguridad de los diferentes inhibidores de los FGFR, nuestro centro ha estado y está activamente involucrado en el desarrollo de inhibidores selectivos y no selectivos de los FGFR. De las pacientes incluidas en nuestra unidad, podemos confirmar la adecuada tolerancia de los inhibidores selectivos de los FGFR, donde la hiperfosfatemia ha sido el efecto secundario más relevante, y el peor perfil de toxicidad de los inhibidores no selectivos, donde destacan los efectos secundarios típicos de los agentes antiangiogénicos con el lucitanib y la toxicidad digestiva y hepática con el dovitinib. Nuestro centro no ha participado en ensayos clínicos con el nintedanib.

Con respecto a la actividad antitumoral, ha sido muy limitada con los inhibidores selectivos en pacientes *FGFR1* amplificadas, lo que sugiere que al menos la amplificación del gen del *FGFR1 per se* no parece ser una alteración molecular *driver* en cáncer de mama, por lo que el descubrimiento de nuevos factores predictivos de respuesta a los inhibidores de los FGFR o la combinación de estos agentes con otras terapias dirigidas u hormonoterapia abriría nuevas opciones para el uso de estos compuestos en pacientes con cáncer de mama. Por el contrario, la actividad antitumoral ha sido más interesante con los inhibidores no selectivos, especialmente con el lucitanib, lo que ha llevado al estudio clínico fase II FINESSE (NCT02053636). En cuanto al desarrollo clínico del dovitinib, se ha visto limitado tanto por su escasa actividad antitumoral como su perfil de toxicidad, toxicidad que también está ocasionando problemas con el lucitanib en los estudios clínicos que se encuentran en marcha actualmente.

9.9. Expectativas de futuro

Al igual que en otras series, nuestro trabajo ha confirmado que la amplificación del gen del *FGFR1* determinada mediante FISH es un evento frecuente en pacientes con cáncer de mama, que está presente en cualquier subtipo molecular [152, 159, 185, 186]. Por el

contrario, la amplificación del gen del *FGFR2* es una alteración molecular poco prevalente, a excepción del subtipo basal, un resultado similar a lo publicado previamente en la literatura utilizando otros métodos de determinación [152, 164].

A pesar de que la elevada frecuencia de la amplificación del gen del *FGFR1* en cáncer de mama ha conducido a un creciente interés en el desarrollo clínico de inhibidores de los FGFR, la eficacia de estos agentes no está respondiendo a las expectativas generadas inicialmente. Así, la actividad antitumoral de los inhibidores selectivos de los FGFR en cáncer de mama ha sido muy limitada al menos en pacientes *FGFR1* amplificadas, lo que sugiere que la amplificación del gen del *FGFR1* *per se* no parece ser una alteración molecular *driver* en cáncer de mama [175]. A pesar de esto, no se debe descartar un papel de esta vía en el tratamiento del cáncer de mama, y es esencial desde nuestro punto de vista la combinación de estos agentes con otras terapias dirigidas u hormonoterapia, así como el descubrimiento de nuevos factores predictivos de respuesta a los inhibidores de los FGFR y de mecanismos de resistencia.

Dentro de la combinación de los inhibidores de los FGFR con otras terapias dirigidas parece razonable, dada la frecuente alteración de la vía de PI3K en cáncer de mama y los datos preclínicos que confirman una importante sinergia al bloquear ambas vías, seguir combinando los inhibidores de los FGFR con los inhibidores de PI3K en pacientes con cáncer de mama [185, 202]. También podría ser interesante combinar los inhibidores de los FGFR con fármacos predominantemente antiangiogénicos, teniendo en cuenta la actividad antitumoral de los inhibidores no selectivos, especialmente con el lucitanib, en probable relación con su actividad antiangiogénica [176]. Además, hay que considerar que el desarrollo de mejores técnicas de análisis genómico va a favorecer en los próximos años la identificación de nuevas alteraciones moleculares asociadas a la alteración de la vía de señalización del FGFR/FGF, y que dirigirá el diseño de estudios clínicos basados en nuevas estrategias de combinación.

Una importante consideración merece aquí la combinación de los inhibidores de los FGFR con hormonoterapia. Como ya hemos mencionado previamente, la justificación de esta combinación radica en la resistencia al tratamiento endocrino que presentan los tumores con una mayor activación de esta vía; en relación con esto, están en marcha diferentes estudios que tienen como objetivo confirmar esta hipótesis preclínica [171]. Además, el peor tiempo libre de progresión alcanzado con la primera línea de tratamiento

hormonal que se ha observado en nuestro trabajo en las pacientes *FGFR1* amplificadas justifica aún más evaluar esta combinación en la práctica clínica.

En cuanto al descubrimiento de nuevos factores predictivos de respuesta a los inhibidores de los FGFR, la implementación progresiva de herramientas de secuenciación masiva en la práctica clínica habitual está propiciando la identificación de nuevas alteraciones moleculares en los genes que codifican los FGFR, cuyo impacto pronóstico y terapéutico se desconoce en la actualidad, aunque llevará tiempo conocer exactamente la relevancia de estas alteraciones considerando su baja frecuencia [152, 157]. No obstante, sí parece más cercano y factible evaluar el papel predictivo de la polisomía de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* en ausencia de amplificación de ambos genes, así como de la amplificación del amplicón 11q, en el beneficio a los inhibidores de los FGFR. Asimismo, nuevas evidencias están poniendo de manifiesto la ausencia de concordancia entre la amplificación del gen del *FGFR1* y los niveles de ARN mensajero y expresión proteica, que pueden predecir mejor el beneficio a los inhibidores de los FGFR en modelos preclínicos que la amplificación génica, aunque este hecho no ha sido todavía demostrado en la práctica clínica y debería ser evaluado para el resto de FGFR [204, 205]. De este modo, si finalmente se identificaran nuevos factores predictivos de respuesta a los inhibidores de los FGFR, se debería también profundizar en el conocimiento de los mecanismos de resistencia a estos agentes, que actualmente son desconocidos.

Con respecto al impacto pronóstico de las alteraciones en esta vía en pacientes con cáncer de mama metastásico, se debería analizar en una cohorte de pacientes mayor el impacto pronóstico tanto de la amplificación del gen del *FGFR2* determinado por FISH como de la polisomía de este gen en ausencia de amplificación del mismo, y se tendría que confirmar si la amplificación del gen del *FGFR1* se trata o no un factor pronóstico en pacientes con cáncer de mama metastásico.

Para finalizar, en los últimos años está adquiriendo cada vez mayor relevancia la utilización de biopsias líquidas, como puede ser el análisis de las células tumorales circulantes o del ADN circulante. La ventaja de este tipo de biopsias radica en la posibilidad de disponer de una muestra tumoral en cualquier momento de la evolución de la enfermedad de una manera mínimamente invasiva. En la actualidad, las biopsias líquidas no se usan de forma sistemática en la práctica clínica; sin embargo, numerosos estudios han evaluado su valor pronóstico y predictivo en pacientes con cáncer de mama

[206]. Por todo esto, y teniendo en cuenta la dificultad para obtener muestras tumorales procedentes de la enfermedad metastásica, el uso de biopsias líquidas para el análisis del estado del *FGFR* y de otros biomarcadores supone un enfoque atractivo y que debería ser analizado en un futuro. Sin embargo, el hecho de demostrar en nuestro trabajo una buena concordancia en el estado de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* entre el tumor primario y las metástasis, hace que el uso de las biopsias líquidas para el análisis del estado del *FGFR* en pacientes con cáncer de mama pueda quedar restringido a aquellas pacientes sin material tumoral disponible, una situación cada vez más frecuente en la práctica clínica por los requerimientos de material para la inclusión en estudios clínicos o para realizar determinaciones moleculares.

10. Conclusiones

1. La amplificación del gen del *FGFR1* determinada por FISH es una alteración frecuente en pacientes con cáncer de mama, mientras que la amplificación del gen del *FGFR2* es un evento infrecuente, a excepción del subtipo molecular basal.

2. La coamplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* determinada por hibridación *in situ* fluorescente no parece ser mutuamente excluyente en pacientes con cáncer de mama.

3. La amplificación del gen del *FGFR1* no se asocia a ninguna característica clínico-patológica de interés en pacientes con cáncer de mama, excepto la edad y el estado menopáusico. Por otro lado, el bajo número de pacientes *FGFR2* amplificadas en nuestro trabajo nos impide establecer conclusiones definitivas en relación con su asociación con las características clínico-patológicas.

4. La polisomía de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* en ausencia de amplificación de ambos genes es una alteración relativamente frecuente en pacientes con cáncer de mama, y es habitual encontrar pacientes *FGFR1* o *FGFR2* no amplificadas polisómicas con amplificación o polisomía sin amplificación del otro gen.

5. En nuestro trabajo, el estado del *FGFR1* (no amplificado *versus* amplificado) no es un factor pronóstico independiente en pacientes con cáncer de mama metastásico. En cambio, y aunque el bajo número de pacientes *FGFR2* amplificadas en nuestro trabajo nos impide establecer conclusiones definitivas en relación con el impacto pronóstico del estado del *FGFR2* (no amplificado *versus* amplificado) en pacientes con cáncer de mama metastásico, teniendo en cuenta las diferencias pronósticas encontradas debería estudiarse con mayor detenimiento.

6. La presencia de alteraciones a nivel del gen del *FGFR1*, a nivel del gen del *FGFR2* y a nivel del *FGFR*, definidas como la presencia de amplificación y/o polisomía del gen sin amplificación del mismo, no son factores pronósticos independientes en pacientes con cáncer de mama metastásico.

7. La amplificación del gen del *FGFR1* se asocia a un peor tiempo libre de progresión de la primera línea de tratamiento hormonal en pacientes con cáncer de mama metastásico con expresión del receptor de estrógeno.
8. La polisomía del gen del *FGFR1* en ausencia de amplificación del gen no es un factor pronóstico en pacientes con cáncer de mama metastásico. Por el contrario, la polisomía del gen del *FGFR2* en ausencia de amplificación del gen sí parece ser un factor pronóstico en pacientes con cáncer de mama metastásico.
9. La mutación de *PIK3CA* es la alteración molecular más frecuentemente detectada en pacientes *FGFR1* amplificadas.
10. Hay una buena concordancia en el estado de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* entre el tumor primario y las metástasis en pacientes con cáncer de mama.
11. Los programas de *pre-screening* molecular son fundamentales para la inclusión de pacientes con cáncer de mama metastásico en estudios clínicos con inhibidores de los FGFR.

11. Referencias

1. Bleyer, A. and H.G. Welch, *Effect of three decades of screening mammography on breast-cancer incidence*. N Engl J Med, 2012. **367**(21): p. 1998-2005.
2. Siegel, R., et al., *Cancer Statistics, 2014*. Ca-a Cancer Journal for Clinicians, 2014. **64**(1): p. 9-29.
3. De Angelis, R., et al., *Cancer survival in Europe 1999-2007 by country and age: results of EUROCORE--5-a population-based study*. Lancet Oncol, 2014. **15**(1): p. 23-34.
4. Ferlay, J., et al., *Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012*. Int J Cancer, 2014.
5. Key, T.J., P.K. Verkasalo, and E. Banks, *Epidemiology of breast cancer*. Lancet Oncol, 2001. **2**(3): p. 133-40.
6. Sinn, H.P. and H. Kreipe, *A Brief Overview of the WHO Classification of Breast Tumors, 4th Edition, Focusing on Issues and Updates from the 3rd Edition*. Breast Care (Basel), 2013. **8**(2): p. 149-54.
7. Pestalozzi, B.C., et al., *Distinct clinical and prognostic features of infiltrating lobular carcinoma of the breast: combined results of 15 International Breast Cancer Study Group clinical trials*. J Clin Oncol, 2008. **26**(18): p. 3006-14.
8. Carter, C.L., C. Allen, and D.E. Henson, *Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases*. Cancer, 1989. **63**(1): p. 181-7.
9. Arpino, G., et al., *Infiltrating lobular carcinoma of the breast: tumor characteristics and clinical outcome*. Breast Cancer Res, 2004. **6**(3): p. R149-56.
10. Goldhirsch, A., 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**(8): p. 1736-47.
11. Henson, D.E., et al., *Relationship among outcome, stage of disease, and histologic grade for 22,616 cases of breast cancer. The basis for a prognostic index*. Cancer, 1991. **68**(10): p. 2142-9.

12. Pinder, S.E., et al., *The importance of the histologic grade of invasive breast carcinoma and response to chemotherapy*. *Cancer*, 1998. **83**(8): p. 1529-39.
13. Ejlertsen, B., et al., *Population-based study of peritumoral lymphovascular invasion and outcome among patients with operable breast cancer*. *J Natl Cancer Inst*, 2009. **101**(10): p. 729-35.
14. Lauria, R., et al., *The prognostic value of lymphatic and blood vessel invasion in operable breast cancer*. *Cancer*, 1995. **76**(10): p. 1772-8.
15. Ragage, F., et al., *Is it useful to detect lymphovascular invasion in lymph node-positive patients with primary operable breast cancer?* *Cancer*, 2010. **116**(13): p. 3093-101.
16. Bevilacqua, J.L., et al., *Doctor, what are my chances of having a positive sentinel node? A validated nomogram for risk estimation*. *J Clin Oncol*, 2007. **25**(24): p. 3670-9.
17. Hammond, M.E., et al., *American Society of Clinical Oncology/College Of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer*. *J Clin Oncol*, 2010. **28**(16): p. 2784-95.
18. Kennecke, H., et al., *Metastatic behavior of breast cancer subtypes*. *J Clin Oncol*, 2010. **28**(20): p. 3271-7.
19. Dunnwald, L.K., M.A. Rossing, and C.I. Li, *Hormone receptor status, tumor characteristics, and prognosis: a prospective cohort of breast cancer patients*. *Breast Cancer Res*, 2007. **9**(1): p. R6.
20. Davies, C., et al., *Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient-level meta-analysis of randomised trials*. *Lancet*, 2011. **378**(9793): p. 771-84.
21. Hudis, C.A., *Trastuzumab--mechanism of action and use in clinical practice*. *N Engl J Med*, 2007. **357**(1): p. 39-51.
22. Wolff, A.C., et al., *Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update*. *J Clin Oncol*, 2013. **31**(31): p. 3997-4013.

23. Goldhirsch, A., et al., *Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013*. *Ann Oncol*, 2013. **24**(9): p. 2206-23.
24. Dowsett, M., et al., *Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer working group*. *J Natl Cancer Inst*, 2011. **103**(22): p. 1656-64.
25. Yerushalmi, R., et al., *Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential*. *Lancet Oncol*, 2010. **11**(2): p. 174-83.
26. Fredholm, H., et al., *Breast cancer in young women: poor survival despite intensive treatment*. *PLoS One*, 2009. **4**(11): p. e7695.
27. Partridge, A.H., et al., *First international consensus guidelines for breast cancer in young women (BCY1)*. *Breast*, 2014. **23**(3): p. 209-20.
28. Perou, C., et al., *Molecular portraits of human breast tumours*. *Nature*, 2000. **406**: p. 747-752.
29. Sorlie, T., et al., *Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001. **98**(19): p. 10869-74.
30. Sorlie, T., et al., *Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003. **100**(14): p. 8418-23.
31. Dawood, S., et al., *Prognosis of women with metastatic breast cancer by HER2 status and trastuzumab treatment: an institutional-based review*. *J Clin Oncol*, 2010. **28**(1): p. 92-8.
32. Cheang, M.C., et al., *Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer*. *J Natl Cancer Inst*, 2009. **101**(10): p. 736-50.
33. Prat, A., et al., *Prognostic significance of progesterone receptor-positive tumor cells within immunohistochemically defined luminal A breast cancer*. *J Clin Oncol*, 2013. **31**(2): p. 203-9.
34. Halsted, W.S., *I. A Clinical and Histological Study of certain Adenocarcinomata of the Breast: and a Brief Consideration of the Supraclavicular Operation and of the Results*

of Operations for Cancer of the Breast from 1889 to 1898 at the Johns Hopkins Hospital. Ann Surg, 1898. **28**(5): p. 557-76.

35. Hellman, S. and J.R. Harris, *The appropriate breast cancer paradigm.* Cancer Res, 1987. **47**(2): p. 339-42.

36. Liberman, L. and J.H. Menell, *Breast imaging reporting and data system (BI-RADS).* Radiol Clin North Am, 2002. **40**(3): p. 409-30, v.

37. Turnbull, L., et al., *Comparative effectiveness of MRI in breast cancer (COMICE) trial: a randomised controlled trial.* Lancet, 2010. **375**(9714): p. 563-71.

38. College of American Pathologists. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Invasive Carcinoma of the Breast [Internet]. Disponible en: http://www.cap.org/apps/docs/committees/cancer/cancer_protocols/2013/BreastInvasive_13protocol_3200.pdf.

39. http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/breast.pdf.

40. Edge SB, B.D., Compton CC, et al. AJCC Cancer Staging Manual. Chicago, IL: Springer, Part VII Breast. 7th edition. 2009;345–376.

41. *Screening for breast cancer: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement.* Ann Intern Med, 2009. **151**(10): p. 716-26, W-236.

42. Warner, E., et al., *Prospective study of breast cancer incidence in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation under surveillance with and without magnetic resonance imaging.* J Clin Oncol, 2011. **29**(13): p. 1664-9.

43. Fisher, B., et al., *Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer.* N Engl J Med, 2002. **347**(16): p. 1233-41.

44. Krekel, N.M.A., et al., *Intraoperative ultrasound guidance for palpable breast cancer excision (COBALT trial): a multicentre, randomised controlled trial.* Lancet Oncology, 2013. **14**(1): p. 48-54.

45. Postma, E.L., et al., *Efficacy of 'radioguided occult lesion localisation' (ROLL) versus 'wire-guided localisation' (WGL) in breast conserving surgery for non-palpable*

breast cancer: a randomised controlled multicentre trial. Breast Cancer Res Treat, 2012. **136**(2): p. 469-78.

46. De Cicco, C., et al., *Optimised nuclear medicine method for tumour marking and sentinel node detection in occult primary breast lesions.* Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2004. **31**(3): p. 349-54.

47. de Alcantara Filho, P., et al., *Nipple-sparing mastectomy for breast cancer and risk-reducing surgery: the Memorial Sloan-Kettering Cancer Center experience.* Ann Surg Oncol, 2011. **18**(11): p. 3117-22.

48. Chamberlain, R.S., et al., *Apocrine gland carcinoma of the axilla: review of the literature and recommendations for treatment.* Am J Clin Oncol, 1999. **22**(2): p. 131-5.

49. Derossis, A.M., et al., *A trend analysis of the relative value of blue dye and isotope localization in 2,000 consecutive cases of sentinel node biopsy for breast cancer.* J Am Coll Surg, 2001. **193**(5): p. 473-8.

50. Krag, D.N., et al., *Sentinel-lymph-node resection compared with conventional axillary-lymph-node dissection in clinically node-negative patients with breast cancer: overall survival findings from the NSABP B-32 randomised phase 3 trial.* Lancet Oncol, 2010. **11**(10): p. 927-33.

51. Lyman, G.H., et al., *Sentinel lymph node biopsy for patients with early-stage breast cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update.* J Clin Oncol, 2014. **32**(13): p. 1365-83.

52. Giuliano, A.E., et al., *Axillary dissection vs no axillary dissection in women with invasive breast cancer and sentinel node metastasis: a randomized clinical trial.* JAMA, 2011. **305**(6): p. 569-75.

53. Galimberti, V., et al., *Axillary dissection versus no axillary dissection in patients with sentinel-node micrometastases (IBCSG 23-01): a phase 3 randomised controlled trial.* Lancet Oncol, 2013. **14**(4): p. 297-305.

54. Salama, J.K., et al., *Does the number of lymph nodes examined in patients with lymph node-negative breast carcinoma have prognostic significance?* Cancer, 2005. **103**(4): p. 664-71.

55. Sosa, J.A., et al., *Association between extent of axillary lymph node dissection and survival in patients with stage I breast cancer*. *Ann Surg Oncol*, 1998. **5**(2): p. 140-9.
56. Silberman, A.W., et al., *Comparative morbidity of axillary lymph node dissection and the sentinel lymph node technique: implications for patients with breast cancer*. *Ann Surg*, 2004. **240**(1): p. 1-6.
57. Goldhirsch, A., et al., *Meeting highlights: International Consensus Panel on the Treatment of Primary Breast Cancer*. *J Natl Cancer Inst*, 1998. **90**(21): p. 1601-8.
58. Ravdin, P., et al., *Computer program to assist in making decisions about adjuvant therapy for women with early breast cancer*. *Journal of clinical oncology*, 2001. **19**(4): p. 980-991.
59. EBCT, *Polychemotherapy for early breast cancer: an overview of the randomised trials*. *the lancet*, 1998. **352**: p. 930-942.
60. Knauer, M., et al., *The predictive value of the 70-gene signature for adjuvant chemotherapy in early breast cancer*. *Breast Cancer Res Treat*. **120**(3): p. 655-61.
61. van de Vijver, M.J., et al., *A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer*. *N Engl J Med*, 2002. **347**(25): p. 1999-2009.
62. Cardoso, F., et al., *The MINDACT trial: the first prospective clinical validation of a genomic tool*. *Mol Oncol*, 2007. **1**(3): p. 246-51.
63. Paik, S., et al., *A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer*. *N Engl J Med*, 2004. **351**(27): p. 2817-26.
64. Paik, S., et al., *Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer*. *J Clin Oncol*, 2006. **24**(23): p. 3726-34.
65. Albain, K.S., et al., *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*, 2010. **11**(1): p. 55-65.
66. Sparano, J.A., *TAILORx: trial assigning individualized options for treatment (Rx)*. *Clin Breast Cancer*, 2006. **7**(4): p. 347-50.

67. Ramsey, S.D., et al., *Integrating comparative effectiveness design elements and endpoints into a phase III, randomized clinical trial (SWOG S1007) evaluating oncotypeDX-guided management for women with breast cancer involving lymph nodes.* Contemp Clin Trials, 2013. **34**(1): p. 1-9.
68. *Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials.* Lancet, 2005. **365**(9472): p. 1687-717.
69. Fisher, B., et al., *Tamoxifen and chemotherapy for axillary node-negative, estrogen receptor-negative breast cancer: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-23.* J Clin Oncol, 2001. **19**(4): p. 931-42.
70. Levine, M.N., et al., *Randomized trial comparing cyclophosphamide, epirubicin, and fluorouracil with cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil in premenopausal women with node-positive breast cancer: update of National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group Trial MA5.* J Clin Oncol, 2005. **23**(22): p. 5166-70.
71. Martin, M., et al., *Doxorubicin in combination with fluorouracil and cyclophosphamide (i.v. FAC regimen, day 1, 21) versus methotrexate in combination with fluorouracil and cyclophosphamide (i.v. CMF regimen, day 1, 21) as adjuvant chemotherapy for operable breast cancer: a study by the GEICAM group.* Ann Oncol, 2003. **14**(6): p. 833-42.
72. Jones, S.E., et al., *Phase III trial comparing doxorubicin plus cyclophosphamide with docetaxel plus cyclophosphamide as adjuvant therapy for operable breast cancer.* J Clin Oncol, 2006. **24**(34): p. 5381-7.
73. Jones, S., et al., *Docetaxel With Cyclophosphamide Is Associated With an Overall Survival Benefit Compared With Doxorubicin and Cyclophosphamide: 7-Year Follow-Up of US Oncology Research Trial 9735.* J Clin Oncol, 2009. **27**(8): p. 1177-83.
74. Fumoleau, P., et al., *Randomized trial comparing six versus three cycles of epirubicin-based adjuvant chemotherapy in premenopausal, node-positive breast cancer patients: 10-year follow-up results of the French Adjuvant Study Group 01 trial.* J Clin Oncol, 2003. **21**(2): p. 298-305.
75. Shulman, L.N., et al., *Six cycles of doxorubicin and cyclophosphamide or Paclitaxel are not superior to four cycles as adjuvant chemotherapy for breast cancer in*

women with zero to three positive axillary nodes: Cancer and Leukemia Group B 40101. *J Clin Oncol*, 2012. **30**(33): p. 4071-6.

76. Henderson, I.C., et al., *Improved Outcomes From Adding Sequential Paclitaxel but Not From Escalating Doxorubicin Dose in an Adjuvant Chemotherapy Regimen for Patients With Node-Positive Primary Breast Cancer*. *J Clin Oncol*, 2003: p. JCO.2003.02.063.

77. *Benefit of a high-dose epirubicin regimen in adjuvant chemotherapy for node-positive breast cancer patients with poor prognostic factors: 5-year follow-up results of French Adjuvant Study Group 05 randomized trial*. *J Clin Oncol*, 2001. **19**(3): p. 602-11.

78. De Laurentiis, M., et al., *Taxane-based combinations as adjuvant chemotherapy of early breast cancer: a meta-analysis of randomized trials*. *J Clin Oncol*, 2008. **26**(1): p. 44-53.

79. Martin, M., et al., *Adjuvant docetaxel for high-risk, node-negative breast cancer*. *N Engl J Med*. **363**(23): p. 2200-10.

80. Martin, M., et al., *Fluorouracil, doxorubicin, and cyclophosphamide (FAC) versus FAC followed by weekly paclitaxel as adjuvant therapy for high-risk, node-negative breast cancer: results from the GEICAM/2003-02 study*. *J Clin Oncol*, 2013. **31**(20): p. 2593-9.

81. Sparano, J.A., et al., *Weekly paclitaxel in the adjuvant treatment of breast cancer*. *N Engl J Med*, 2008. **358**(16): p. 1663-71.

82. Gonzalez-Angulo, A.M., et al., *High risk of recurrence for patients with breast cancer who have human epidermal growth factor receptor 2-positive, node-negative tumors 1 cm or smaller*. *J Clin Oncol*, 2009. **27**(34): p. 5700-6.

83. Curigliano, G., et al., *Clinical relevance of HER2 overexpression/amplification in patients with small tumor size and node-negative breast cancer*. *J Clin Oncol*, 2009. **27**(34): p. 5693-9.

84. Pivot, X., et al., *6 months versus 12 months of adjuvant trastuzumab for patients with HER2-positive early breast cancer (PHARE): a randomised phase 3 trial*. *Lancet Oncol*, 2013. **14**(8): p. 741-8.

85. Goldhirsch, A., et al., *2 years versus 1 year of adjuvant trastuzumab for HER2-positive breast cancer (HERA): an open-label, randomised controlled trial*. *Lancet*, 2013. **382**(9897): p. 1021-8.
86. Slamon, D., et al., *Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer*. *N Engl J Med*, 2011. **365**(14): p. 1273-83.
87. Tolaney, S.M., et al., *Adjuvant paclitaxel and trastuzumab for node-negative, HER2-positive breast cancer*. *N Engl J Med*, 2015. **372**(2): p. 134-41.
88. Davies, C., et al., *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*, 2013. **381**(9869): p. 805-16.
89. Gray, R.G., et al., *aTTom: Long-term effects of continuing adjuvant tamoxifen to 10 years versus stopping at 5 years in 6,953 women with early breast cancer*. *J Clin Oncol* 31, 2013 (suppl; abstr LBA5).
90. Dowsett, M., et al., *Meta-analysis of breast cancer outcomes in adjuvant trials of aromatase inhibitors versus tamoxifen*. *J Clin Oncol*, 2010. **28**(3): p. 509-18.
91. Forbes, J.F., et al., *Effect of anastrozole and tamoxifen as adjuvant treatment for early-stage breast cancer: 100-month analysis of the ATAC trial*. *Lancet Oncol*, 2008. **9**(1): p. 45-53.
92. Coates, A.S., et al., *Five years of letrozole compared with tamoxifen as initial adjuvant therapy for postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer: update of study BIG 1-98*. *J Clin Oncol*, 2007. **25**(5): p. 486-92.
93. Bliss, J.M., et al., *Disease-related outcomes with long-term follow-up: an updated analysis of the intergroup exemestane study*. *J Clin Oncol*, 2012. **30**(7): p. 709-17.
94. Boccardo, F., et al., *Switching to anastrozole versus continued tamoxifen treatment of early breast cancer. Updated results of the Italian tamoxifen anastrozole (ITA) trial*. *Ann Oncol*, 2006. **17 Suppl 7**: p. vii10-4.
95. Jakesz, R., et al., *Switching of postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer to anastrozole after 2 years' adjuvant tamoxifen: combined results of ABCSG trial 8 and ARNO 95 trial*. *Lancet*, 2005. **366**(9484): p. 455-62.

96. Jin, H., et al., *Longer-term outcomes of letrozole versus placebo after 5 years of tamoxifen in the NCIC CTG MA.17 trial: analyses adjusting for treatment crossover*. J Clin Oncol, 2012. **30**(7): p. 718-21.
97. Klijn, J.G., et al., *Combined treatment with buserelin and tamoxifen in premenopausal metastatic breast cancer: a randomized study*. J Natl Cancer Inst, 2000. **92**(11): p. 903-11.
98. Pagani, O., et al., *Adjuvant exemestane with ovarian suppression in premenopausal breast cancer*. N Engl J Med, 2014. **371**(2): p. 107-18.
99. Francis, P.A., et al., *Adjuvant Ovarian Suppression in Premenopausal Breast Cancer*. N Engl J Med, 2014.
100. McGale, P., et al., *Effect of radiotherapy after mastectomy and axillary surgery on 10-year recurrence and 20-year breast cancer mortality: meta-analysis of individual patient data for 8135 women in 22 randomised trials*. Lancet, 2014. **383**(9935): p. 2127-35.
101. Darby, S., et al., *Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: meta-analysis of individual patient data for 10,801 women in 17 randomised trials*. Lancet, 2011. **378**(9804): p. 1707-16.
102. Kaufmann, M., et al., *Locoregional treatment of primary breast cancer: consensus recommendations from an International Expert Panel*. Cancer, 2010. **116**(5): p. 1184-91.
103. Kunkler, I.H., et al., *Elucidating the role of chest wall irradiation in 'intermediate-risk' breast cancer: the MRC/EORTC SUPREMO trial*. Clin Oncol (R Coll Radiol), 2008. **20**(1): p. 31-4.
104. Kunkler, I.H., et al., *Breast-conserving surgery with or without irradiation in women aged 65 years or older with early breast cancer (PRIME II): a randomised controlled trial*. Lancet Oncol, 2015. **16**(3): p. 266-73.
105. Hughes, K.S., et al., *Lumpectomy plus tamoxifen with or without irradiation in women 70 years of age or older with early breast cancer*. N Engl J Med, 2004. **351**(10): p. 971-7.
106. Bear, H.D., et al., *Sequential preoperative or postoperative docetaxel added to preoperative doxorubicin plus cyclophosphamide for operable breast cancer: National*

Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. J Clin Oncol, 2006. **24**(13): p. 2019-27.

107. Gianni, L., et al., *Phase III trial evaluating the addition of paclitaxel to doxorubicin followed by cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil, as adjuvant or primary systemic therapy: European Cooperative Trial in Operable Breast Cancer*. J Clin Oncol, 2009. **27**(15): p. 2474-81.

108. Mauri, D., N. Pavlidis, and J.P. Ioannidis, *Neoadjuvant versus adjuvant systemic treatment in breast cancer: a meta-analysis*. J Natl Cancer Inst, 2005. **97**(3): p. 188-94.

109. von Minckwitz, G., et al., *Response-guided neoadjuvant chemotherapy for breast cancer*. J Clin Oncol, 2013. **31**(29): p. 3623-30.

110. Esserman, L.J., et al., *Pathologic complete response predicts recurrence-free survival more effectively by cancer subset: results from the I-SPY 1 TRIAL--CALGB 150007/150012, ACRIN 6657*. J Clin Oncol, 2012. **30**(26): p. 3242-9.

111. Cortazar, P., et al., *Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis*. Lancet, 2014. **384**(9938): p. 164-72.

112. von Minckwitz, G., et al., *Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes*. J Clin Oncol, 2012. **30**(15): p. 1796-804.

113. Prowell, T.M. and R. Pazdur, *Pathological complete response and accelerated drug approval in early breast cancer*. N Engl J Med, 2012. **366**(26): p. 2438-41.

114. Gianni, L., et al., *Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a randomised multicentre, open-label, phase 2 trial*. Lancet Oncol, 2012. **13**(1): p. 25-32.

115. Schneeweiss, A., et al., *Pertuzumab plus trastuzumab in combination with standard neoadjuvant anthracycline-containing and anthracycline-free chemotherapy regimens in patients with HER2-positive early breast cancer: a randomized phase II cardiac safety study (TRYPHAENA)*. Ann Oncol, 2013. **24**(9): p. 2278-84.

116. Green, M.C., et al., *Weekly paclitaxel improves pathologic complete remission in operable breast cancer when compared with paclitaxel once every 3 weeks*. J Clin Oncol, 2005. **23**(25): p. 5983-92.
117. von Minckwitz, G., et al., *Intensified neoadjuvant chemotherapy in early-responding breast cancer: phase III randomized GeparTrio study*. J Natl Cancer Inst, 2008. **100**(8): p. 552-62.
118. von Minckwitz, G., et al., *Survival after adding capecitabine and trastuzumab to neoadjuvant anthracycline-taxane-based chemotherapy for primary breast cancer (GBG 40--GeparQuattro)*. Ann Oncol, 2014. **25**(1): p. 81-9.
119. Gianni, L., et al., *Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (the NOAH trial): a randomised controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort*. Lancet, 2010. **375**(9712): p. 377-84.
120. Dowsett, M., et al., *Short-term changes in Ki-67 during neoadjuvant treatment of primary breast cancer with anastrozole or tamoxifen alone or combined correlate with recurrence-free survival*. Clin Cancer Res, 2005. **11**(2 Pt 2): p. 951s-8s.
121. Ellis, M.J., et al., *Outcome prediction for estrogen receptor-positive breast cancer based on postneoadjuvant endocrine therapy tumor characteristics*. J Natl Cancer Inst, 2008. **100**(19): p. 1380-8.
122. Masuda, N., et al., *Neoadjuvant anastrozole versus tamoxifen in patients receiving goserelin for premenopausal breast cancer (STAGE): a double-blind, randomised phase 3 trial*. Lancet Oncol, 2012. **13**(4): p. 345-52.
123. Cardoso, F. and M. Castiglione, *Locally recurrent or metastatic breast cancer: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up*. Ann Oncol, 2009. **20 Suppl 4**: p. 15-8.
124. Penault-Llorca, F., et al., *Experts' opinion: Recommendations for retesting breast cancer metastases for HER2 and hormone receptor status*. Breast, 2013. **22**(2): p. 200-2.
125. Badwe, R., et al., *Surgical removal of primary tumor and axillary lymph nodes in women with metastatic breast cancer at first presentation: A randomized controlled trial*.

Presented at: Thirty-Sixth Annual CTSC-AACR San Antonio Breast Cancer Symposium 2013; December 10-14, 2013; San Antonio, TX. Abstract S2-02.

126. Soran, A., et al., *Early follow up of a randomized trial evaluating resection of the primary breast tumor in women presenting with de novo stage IV breast cancer; Turkish study (protocol MF07-01)*. Presented at: Thirty-Sixth Annual CTSC-AACR San Antonio Breast Cancer Symposium 2013; December 10-14, 2013; San Antonio, TX. Abstract S2-03.

127. Pagani, O., et al., *International guidelines for management of metastatic breast cancer: can metastatic breast cancer be cured?* J Natl Cancer Inst, 2010. **102**(7): p. 456-63.

128. Stopeck, A.T., et al., *Denosumab compared with zoledronic acid for the treatment of bone metastases in patients with advanced breast cancer: a randomized, double-blind study*. J Clin Oncol, 2010. **28**(35): p. 5132-9.

129. Aapro, M., F. Saad, and L. Costa, *Optimizing clinical benefits of bisphosphonates in cancer patients with bone metastases*. Oncologist, 2010. **15**(11): p. 1147-58.

130. Le Scodan, R., et al., *Breast cancer with synchronous metastases: survival impact of exclusive locoregional radiotherapy*. J Clin Oncol, 2009. **27**(9): p. 1375-81.

131. Owonikoko, T.K., et al., *Current approaches to the treatment of metastatic brain tumours*. Nat Rev Clin Oncol, 2014. **11**(4): p. 203-22.

132. Klijn, J.G., et al., *Combined tamoxifen and luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) agonist versus LHRH agonist alone in premenopausal advanced breast cancer: a meta-analysis of four randomized trials*. J Clin Oncol, 2001. **19**(2): p. 343-53.

133. Mouridsen, H., et al., *Phase III study of letrozole versus tamoxifen as first-line therapy of advanced breast cancer in postmenopausal women: analysis of survival and update of efficacy from the International Letrozole Breast Cancer Group*. J Clin Oncol, 2003. **21**(11): p. 2101-9.

134. Nabholz, J.M., et al., *Anastrozole is superior to tamoxifen as first-line therapy for advanced breast cancer in postmenopausal women: results of a North American multicenter randomized trial. Arimidex Study Group*. J Clin Oncol, 2000. **18**: p. 3758-67.

135. Baselga, J., et al., *Everolimus in postmenopausal hormone-receptor-positive advanced breast cancer*. N Engl J Med, 2012. **366**(6): p. 520-9.
136. Chia, S., et al., *Double-blind, randomized placebo controlled trial of fulvestrant compared with exemestane after prior nonsteroidal aromatase inhibitor therapy in postmenopausal women with hormone receptor-positive, advanced breast cancer: results from EFECT*. J Clin Oncol, 2008. **26**(10): p. 1664-70.
137. O'Shaughnessy, J., et al., *Superior survival with capecitabine plus docetaxel combination therapy in anthracycline-pretreated patients with advanced breast cancer: phase III trial results*. J Clin Oncol, 2002. **20**(12): p. 2812-23.
138. Albain, K.S., et al., *Gemcitabine plus Paclitaxel versus Paclitaxel monotherapy in patients with metastatic breast cancer and prior anthracycline treatment*. J Clin Oncol, 2008. **26**(24): p. 3950-7.
139. Piccart-Gebhart, M.J., et al., *Taxanes alone or in combination with anthracyclines as first-line therapy of patients with metastatic breast cancer*. J Clin Oncol, 2008. **26**(12): p. 1980-6.
140. Cardoso, F., et al., *International guidelines for management of metastatic breast cancer: combination vs sequential single-agent chemotherapy*. J Natl Cancer Inst, 2009. **101**(17): p. 1174-81.
141. Blum, J.L., et al., *Multicenter phase II study of capecitabine in paclitaxel-refractory metastatic breast cancer*. J Clin Oncol, 1999. **17**(2): p. 485-93.
142. Cortes, J., et al., *Eribulin monotherapy versus treatment of physician's choice in patients with metastatic breast cancer (EMBRACE): a phase 3 open-label randomised study*. Lancet, 2011. **377**(9769): p. 914-23.
143. Miles, D.W., et al., *Phase III study of bevacizumab plus docetaxel compared with placebo plus docetaxel for the first-line treatment of human epidermal growth factor receptor 2-negative metastatic breast cancer*. J Clin Oncol, 2010. **28**(20): p. 3239-47.
144. Robert, N.J., et al., *RIBBON-1: randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III trial of chemotherapy with or without bevacizumab for first-line treatment of human epidermal growth factor receptor 2-negative, locally recurrent or metastatic breast cancer*. J Clin Oncol, 2011. **29**(10): p. 1252-60.

145. Miller, K., et al., *Paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone for metastatic breast cancer*. N Engl J Med, 2007. **357**(26): p. 2666-76.
146. Johnston, S., et al., *Lapatinib combined with letrozole versus letrozole and placebo as first-line therapy for postmenopausal hormone receptor-positive metastatic breast cancer*. J Clin Oncol, 2009. **27**(33): p. 5538-46.
147. Kaufman, B., et al., *Trastuzumab plus anastrozole versus anastrozole alone for the treatment of postmenopausal women with human epidermal growth factor receptor 2-positive, hormone receptor-positive metastatic breast cancer: results from the randomized phase III TAnDEM study*. J Clin Oncol, 2009. **27**(33): p. 5529-37.
148. Marty, M., et al., *Randomized phase II trial of the efficacy and safety of trastuzumab combined with docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer administered as first-line treatment: the M77001 study group*. J Clin Oncol, 2005. **23**(19): p. 4265-74.
149. Slamon, D.J., et al., *Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2*. N Engl J Med, 2001. **344**(11): p. 783-92.
150. Baselga, J., et al., *Pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel for metastatic breast cancer*. N Engl J Med, 2012. **366**(2): p. 109-19.
151. Verma, S., et al., *Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer*. N Engl J Med, 2012. **367**(19): p. 1783-91.
152. *Comprehensive molecular portraits of human breast tumours*. Nature, 2012. **490**(7418): p. 61-70.
153. Geyer, C.E., et al., *Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer*. N Engl J Med, 2006. **355**(26): p. 2733-43.
154. Turner, N. and R. Grose, *Fibroblast growth factor signalling: from development to cancer*. Nat Rev Cancer, 2010. **10**(2): p. 116-29.
155. Haugsten, E.M., et al., *Roles of fibroblast growth factor receptors in carcinogenesis*. Mol Cancer Res, 2010. **8**(11): p. 1439-52.

156. Eswarakumar, V.P., I. Lax, and J. Schlessinger, *Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors*. Cytokine Growth Factor Rev, 2005. **16**(2): p. 139-49.
157. Wu, Y.M., et al., *Identification of targetable FGFR gene fusions in diverse cancers*. Cancer Discov, 2013. **3**(6): p. 636-47.
158. Zhou, L., et al., *Three novel functional polymorphisms in the promoter of FGFR2 gene and breast cancer risk: a HuGE review and meta-analysis*. Breast Cancer Res Treat, 2012. **136**(3): p. 885-97.
159. Elbauomy Elsheikh, S., et al., *FGFR1 amplification in breast carcinomas: a chromogenic in situ hybridisation analysis*. Breast Cancer Res, 2007. **9**(2): p. R23.
160. Ray, M.E., et al., *Genomic and expression analysis of the 8p11-12 amplicon in human breast cancer cell lines*. Cancer Res, 2004. **64**(1): p. 40-7.
161. Kwek, S.S., et al., *Co-amplified genes at 8p12 and 11q13 in breast tumors cooperate with two major pathways in oncogenesis*. Oncogene, 2009. **28**(17): p. 1892-903.
162. Reis-Filho, J.S., et al., *FGFR1 emerges as a potential therapeutic target for lobular breast carcinomas*. Clin Cancer Res, 2006. **12**(22): p. 6652-62.
163. Andre, F., et al., *Molecular characterization of breast cancer with high-resolution oligonucleotide comparative genomic hybridization array*. Clin Cancer Res, 2009. **15**(2): p. 441-51.
164. Turner, N., et al., *Integrative molecular profiling of triple negative breast cancers identifies amplicon drivers and potential therapeutic targets*. Oncogene, 2010. **29**(14): p. 2013-23.
165. Jaakkola, S., et al., *Amplification of fgfr4 gene in human breast and gynecological cancers*. Int J Cancer, 1993. **54**(3): p. 378-82.
166. Penault-Llorca, F., et al., *Expression of FGF and FGF receptor genes in human breast cancer*. Int J Cancer, 1995. **61**(2): p. 170-6.
167. Greenman, C., et al., *Patterns of somatic mutation in human cancer genomes*. Nature, 2007. **446**(7132): p. 153-8.

168. Roidl, A., et al., *The FGFR4 Y367C mutant is a dominant oncogene in MDA-MB453 breast cancer cells*. *Oncogene*, 2010. **29**(10): p. 1543-52.
169. Shiang, C.Y., et al., *Amplification of fibroblast growth factor receptor-1 in breast cancer and the effects of brivanib alaninate*. *Breast Cancer Res Treat*, 2010. **123**(3): p. 747-55.
170. Andre, F., et al., *Targeting FGFR with dovitinib (TKI258): preclinical and clinical data in breast cancer*. *Clin Cancer Res*, 2013. **19**(13): p. 3693-702.
171. Turner, N., et al., *FGFR1 amplification drives endocrine therapy resistance and is a therapeutic target in breast cancer*. *Cancer Res*, 2010. **70**(5): p. 2085-94.
172. Sun, S., et al., *Increased expression of fibroblastic growth factor receptor 2 is correlated with poor prognosis in patients with breast cancer*. *J Surg Oncol*, 2012. **105**(8): p. 773-9.
173. Bange, J., et al., *Cancer progression and tumor cell motility are associated with the FGFR4 Arg(388) allele*. *Cancer Res*, 2002. **62**(3): p. 840-7.
174. Thussbas, C., et al., *FGFR4 Arg388 allele is associated with resistance to adjuvant therapy in primary breast cancer*. *J Clin Oncol*, 2006. **24**(23): p. 3747-55.
175. Wolf, J., et al., Abstract LB-122: A phase I dose escalation study of NVP-BGJ398, a selective pan FGFR inhibitor in genetically preselected advanced solid tumors. *Cancer Res*, 2012. **72**(8): p. suppl 1.
176. Soria, J.C., et al., *Phase I/IIa study evaluating the safety, efficacy, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of lucitanib in advanced solid tumors*. *Ann Oncol*, 2014.
177. <http://clinicaltrials.gov/show/NCT02053636>.
178. Mross, K., et al., *Phase I study of the angiogenesis inhibitor BIBF 1120 in patients with advanced solid tumors*. *Clin Cancer Res*, 2010. **16**(1): p. 311-9.
179. Quintela-Fandino, M., et al., *Phase I clinical trial of nintedanib plus paclitaxel in early HER-2-negative breast cancer (CNIO-BR-01-2010/GEICAM-2010-10 study)*. *Br J Cancer*, 2014. **111**(6): p. 1060-4.

180. Lieu, C., et al., *Beyond VEGF: inhibition of the fibroblast growth factor pathway and antiangiogenesis*. Clin Cancer Res, 2011. **17**(19): p. 6130-9.
181. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01528345?term=NCT01528345&rank=1>.
182. Andre, F., et al., *Results of a phase I study of AZD4547, an inhibitor of fibroblast growth factor receptor (FGFR), in patients with advanced solid tumors*. In: Proceedings of the 104th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research (AACR); 2013, Apr 6-10; Washington DC. Abstr LB145.
183. <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=NCT01202591&Search=Search>.
184. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01791985?term=AZD4547+breast&rank=1>.
185. Hortobagyi, G.N., et al., *Correlation of molecular alterations with efficacy of everolimus in hormone receptor–positive, HER2-negative advanced breast cancer: Results from BOLERO-2*. J Clin Oncol 31, 2013 (suppl; abstr LBA509).
186. Andre, F., et al., *Comparative genomic hybridisation array and DNA sequencing to direct treatment of metastatic breast cancer: a multicentre, prospective trial (SAFIR01/UNICANCER)*. Lancet Oncol, 2014. **15**(3): p. 267-74.
187. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01928459?term=bgj+byl&rank=1>.
188. Hanna, W.M., et al., *HER2 in situ hybridization in breast cancer: clinical implications of polysomy 17 and genetic heterogeneity*. Mod Pathol, 2014. **27**(1): p. 4-18.
189. Brunello, E., et al., *FGFR-1 amplification in metastatic lymph-nodal and haematogenous lobular breast carcinoma*. J Exp Clin Cancer Res, 2012. **31**: p. 103.
190. Vignot, S., et al., *Next-generation sequencing reveals high concordance of recurrent somatic alterations between primary tumor and metastases from patients with non-small-cell lung cancer*. J Clin Oncol, 2013. **31**(17): p. 2167-72.
191. Preusser, M., et al., *High rate of FGFR1 amplifications in brain metastases of squamous and non-squamous lung cancer*. Lung Cancer, 2014. **83**(1): p. 83-9.
192. Goke, F., et al., *Rationale for treatment of metastatic squamous cell carcinoma of the lung using fibroblast growth factor receptor inhibitors*. Chest, 2012. **142**(4): p. 1020-6.

193. Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 (CTCAE). Disponible en: http://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/docs/ctcae3.pdf.
194. Common Terminology Criteria for Adverse Events v4.0 (CTCAE). Disponible en: http://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_5x7.pdf.
195. Therasse, P., et al., *New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada.* J Natl Cancer Inst, 2000. **92**(3): p. 205-16.
196. Eisenhauer, E.A., et al., *New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1).* Eur J Cancer, 2009. **45**(2): p. 228-47.
197. Wolff, A.C., et al., *American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer.* J Clin Oncol, 2007. **25**(1): p. 118-45.
198. Jurinke, C., et al., *Automated genotyping using the DNA MassArray technology.* Methods Mol Biol, 2002. **187**: p. 179-92.
199. Meldrum, C., M.A. Doyle, and R.W. Tothill, *Next-generation sequencing for cancer diagnostics: a practical perspective.* Clin Biochem Rev, 2011. **32**(4): p. 177-95.
200. Llombart-Cussac, A., et al., *A prognostic factor index for overall survival in patients receiving first-line chemotherapy for HER2-negative advanced breast cancer: an analysis of the ATHENA trial.* Breast, 2014. **23**(5): p. 656-62.
201. Slamon, D.J., et al., *Predictive biomarkers of everolimus efficacy in HER2+ advanced breast cancer: Combined exploratory analysis from BOLERO-1 and BOLERO-3.* J Clin Oncol 33, 2015 (suppl; abstr 512).
202. Dieci, M.V., et al., *Fibroblast growth factor receptor inhibitors as a cancer treatment: from a biologic rationale to medical perspectives.* Cancer Discov, 2013. **3**(3): p. 264-79.
203. Amir, E., et al., *Prospective study evaluating the impact of tissue confirmation of metastatic disease in patients with breast cancer.* J Clin Oncol, 2012. **30**(6): p. 587-92.

204. Wynes, M.W., et al., *FGFR1 mRNA and protein expression, not gene copy number, predict FGFR TKI sensitivity across all lung cancer histologies*. Clin Cancer Res, 2014. **20**(12): p. 3299-309.
205. Goke, F., et al., *FGFR1 expression levels predict BGJ398-sensitivity of FGFR1-dependent head and neck squamous cell cancers*. Clin Cancer Res, 2015.
206. De Mattos-Arruda, L., et al., *Circulating tumour cells and cell-free DNA as tools for managing breast cancer*. Nat Rev Clin Oncol, 2013. **10**(7): p. 377-89.

Índice de tablas

- Tabla 1** Subtipos moleculares de cáncer de mama según el perfil inmunohistoquímico
- Tabla 2** Definición de los hallazgos mamográficos según el sistema BI-RADS
- Tabla 3** Recomendaciones de tratamiento sistémico adyuvante en pacientes con cáncer de mama. Saint Gallen 2013
- Tabla 4** Ensayos clínicos fase III con inhibidores de la aromatasa en mujeres posmenopáusicas
- Tabla 5** Inhibidores tirosina quinasa de los FGFR en desarrollo clínico y estudios clínicos más relevantes
- Tabla 6** Características clínico-patológicas de la población global
- Tabla 7** Incidencia de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2*
- Tabla 8** Concordancia entre el estado de la amplificación de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2*
- Tabla 9** Características clínico-patológicas de pacientes *FGFR1* amplificadas y no amplificadas
- Tabla 10** Características clínico-patológicas de pacientes *FGFR2* amplificadas y no amplificadas
- Tabla 11** Características clínico-patológicas de pacientes *FGFR1* no amplificadas polisómicas
- Tabla 12** Características clínico-patológicas de pacientes *FGFR2* no amplificadas polisómicas
- Tabla 13** Análisis univariante de supervivencia libre de enfermedad
- Tabla 14** Análisis multivariante de supervivencia libre de enfermedad
- Tabla 15** Análisis multivariante de supervivencia libre de enfermedad considerando la presencia de alteraciones a nivel del *FGFR*

- Tabla 16** Análisis multivariante de supervivencia libre de enfermedad considerando la presencia de alteraciones a nivel de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* por separado
- Tabla 17** Análisis univariante de supervivencia global
- Tabla 18** Análisis multivariante de supervivencia global
- Tabla 19** Análisis multivariante de supervivencia global considerando la presencia de alteraciones a nivel del *FGFR*
- Tabla 20** Análisis multivariante de supervivencia global considerando la presencia de alteraciones a nivel de los genes del *FGFR1* y del *FGFR2* por separado
- Tabla 21** Resultados del análisis molecular adicional en función del estado de la amplificación del gen del *FGFR1*
- Tabla 22** Tipo y frecuencia de mutaciones en *PIK3CA*
- Tabla 23** Concordancia en el estado de la amplificación del gen del *FGFR1* entre el tumor primario y las metástasis
- Tabla 24** Estado de la amplificación del gen del *FGFR1* en las pacientes con muestras pareadas
- Tabla 25** Concordancia en el estado de la amplificación del gen del *FGFR2* entre el tumor primario y las metástasis
- Tabla 26** Estado de la amplificación del gen del *FGFR2* en las pacientes con muestras pareadas
- Tabla 27** Resumen de las pacientes incluidas en estudios clínicos con inhibidores de los FGFR

Índice de figuras

- Figura 1** Incidencia y mortalidad por cáncer en España en mujeres (estudio GLOBOCAN 2012)
- Figura 2** Algoritmo para el estudio de un nódulo mamario sospechoso
- Figura 3** Supervivencia libre de enfermedad en la población global del trabajo
- Figura 4** Supervivencia libre de enfermedad en función del estado del *FGFR1* (no amplificado *versus* amplificado)
- Figura 5** Supervivencia libre de enfermedad en función del estado del *FGFR2* (no amplificado *versus* amplificado)
- Figura 6** Supervivencia libre de enfermedad en función del estado del *FGFR2* considerando la polisomía del gen del *FGFR2* en ausencia de amplificación del gen
- Figura 7** Supervivencia global en la población global del trabajo
- Figura 8** Supervivencia global en función del estado del *FGFR1* (no amplificado *versus* amplificado)
- Figura 9** Supervivencia global en función del estado del *FGFR2* (no amplificado *versus* amplificado)
- Figura 10** Supervivencia global en función del estado del *FGFR2* considerando la polisomía del gen del *FGFR2* en ausencia de amplificación del gen
- Figura 11** Supervivencia global en función de la presencia o no de alteraciones a nivel del *FGFR*
- Figura 12** Supervivencia global en función de la presencia o no de alteraciones a nivel del gen del *FGFR2*
- Figura 13** Tiempo libre de progresión de la primera línea de tratamiento hormonal en función del estado del *FGFR1* (no amplificado *versus* amplificado)

Índice de abreviaturas

AC: Adriamicina y ciclofosfamida

ACOSOG, del inglés American College of Surgeons Oncology Group

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ARN: Ácido ribonucleico

ASCO, del inglés American Society of Clinical Oncology

BCIRG, del inglés Breast Cancer International Research Group

BI-RADS, del inglés *Breast Imaging Reporting and Data System*

CALGB, del inglés Cancer and Leukemia Group B

CAP, del inglés College of American Pathologists

CTCAE, del inglés *Common Terminology Criteria for Adverse Events*

CMF: Ciclofosfamida, metrotexato y 5-fluoruracilo

CISH: Hibridación *in situ* cromogénica

EBCTG, del inglés Early Breast Cancer Trialist's Collaborative Group

ECOG, del inglés Eastern Cooperative Oncologic Group

EMA, del inglés European Medicines Agency

EGFR, del inglés *Epidermal Growth Factor Receptor*

FAC: 5-fluoruracilo, adriamicina y ciclofosfamida

FEC: 5-fluoruracilo, epirrubicina y ciclofosfamida

FDA, del inglés Food and Drug Administration

FGFR, del inglés *Fibroblast Growth Factor Receptor*

FGF, del inglés *Fibroblast Growth Factors*

FISH: Hibridación *in situ* fluorescente

FRS2, del inglés *Fibroblast Growth Factor Receptor Substrate 2*

HER2: Receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano

HR: *Hazard ratio*

IC 95%: Intervalo de confianza al 95%

ISH: Hibridación *in situ*

LHRH: Hormona liberadora de gonadotropina

m²: Metro cuadrado

MAPK, del inglés *Mitogen-Activated Protein Kinase*

mg: Miligramos

MTD: Máxima dosis tolerada

mTOR, del inglés *Mammalian Target of Rapamycin*

NCCN, del inglés *National Comprehensive Cancer Network*
NGS: Secuenciación de nueva generación
NSABP, del inglés *National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project*
PEPI, del inglés *Preoperative Endocrine Prognostic Index*
PET: Tomografía por emisión de positrones
PI3K, del inglés *Phosphatidylinositol 3-Kinase*
PIK3CA: Subunidad catalítica de PI3K
qPCR: Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa
RCp: Respuesta completa patológica
RE: Receptor de estrógeno
RECIST, del inglés *Response Evaluation Criteria In Solid Tumors*
ROLL, del inglés *Radioguided Occult Lesion Localisation*
RP: Receptor de progesterona
RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa
SISH: Hibridación *in situ* por plata
SNOLL, del inglés *Sentinel Node and Occult Lesion Localisation*
SNP, del inglés *Single Nucleotide Polymorphisms*
STAT, del inglés *Signal Transducer and Activator of Transcription*
SWOG, del inglés *Southwest Oncology Group*
99mTc: Tecnecio 99 metaestable
TAC: Docetaxel, adriamicina y ciclofosfamida
TC: Docetaxel y ciclofosfamida
TCGA, del inglés *The Cancer Genome Atlas*
VEGF-A, del inglés *Vascular Endothelial Growth Factor A*
VEGFR, del inglés *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor*
VHIO, del inglés *Vall d'Hebron Institute of Oncology*
WHO, del inglés *World Health Organization*