



UNIMORE

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI
MODENA E REGGIO EMILIA

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche Materno-Infantili e dell'Adulto

Struttura Complessa di Oncologia

**Analisi retrospettiva del valore prognostico del
linfonodo sentinella valutato con tecnica OSNA in
pazienti operate per tumore della mammella in fase
precoce**

Relatore:

Prof. Federico Piacentini

Correlatore:

Dott. Luca Moscetti

Tesi di Laurea di:

Pietro Davoli

Anno Accademico 2025/2026

INDICE

ABSTRACT.....	5
1. INTRODUZIONE.....	7
1.1 TUMORE DELLA MAMMELLA	7
1.1.1 EPIDEMIOLOGIA	7
1.1.2 FATTORI DI RISCHIO E FATTORI PROTETTIVI	9
1.1.3 CLASSIFICAZIONE ISTOLOGICA.....	11
1.1.4 CLASSIFICAZIONE MOLECOLARE	12
1.1.5 CLINICA	15
1.1.6 DIAGNOSI.....	16
1.1.7 SCREENING MAMMOGRAFICO E DIAGNOSI PRECOCE	20
1.1.8 STADIAZIONE	23
1.1.9 PROGNOSI.....	26
1.1.10 CORRELAZIONE TRA STADIAZIONE, PROGNOSI E CURABILITÀ	31
1.2 PERCORSO TERAPEUTICO DEL TUMORE DELLA MAMMELLA DIAGNOSTICATO IN FASE PRECOCE	33
1.2.1 VALUTAZIONE INIZIALE DEL RISCHIO DEL MULTIDISCIPLINARY TEAM (MDT).....	33
1.2.2 TERAPIA SISTEMICA NEOADIUVANTE.....	34
1.2.3 CHIRURGIA DELLA MAMMELLA	36
1.2.4 BIOPSIA DEL LINFONODO SENTINELLA E DISSEZIONE ASCELLARE	38
1.2.5 RADIOTERAPIA ADIUVANTE.....	40
1.2.6 TERAPIA SISTEMICA ADIUVANTE.....	42
1.2.7 FOLLOW-UP	45
1.2.8 MONITORAGGIO DELLE TOSSICITÀ A LUNGO TERMINE INDOTTE DALLA TERAPIA E POPOLAZIONI SPECIALI	46
1.2.9 GESTIONE DELLE RECIDIVE	49
1.3 TECNICA OSNA PER L'ANALISI DEL LINFONODO SENTINELLA.....	51
1.3.1 FONDAMENTI TECNICI E DIAGNOSTICI.....	51
1.3.2 VANTAGGI RISPETTO ALL'ISTOLOGIA INTRAOPERATORIA	53
1.3.3 LIMITI RISPETTO ALL'ISTOLOGIA INTRAOPERATORIA	54
1.3.4 ADOZIONE DELLA TECNICA NEI PAESI AD ALTO REDDITO.....	56

1.3.5 VALORE PREDITTIVO DEL TOTAL TUMOR LOAD (TTL)	57
1.3.6 VALORE PROGNOSTICO DEL TOTAL TUMOR LOAD (TTL): RESEARCH GAP E OBIETTIVI DELLO STUDIO	58
2. MATERIALI E METODI	61
2.1 DISEGNO DELLO STUDIO E OBIETTIVI	61
2.2 POPOLAZIONE DELLO STUDIO E CRITERI DI SELEZIONE.....	61
2.3 DEFINIZIONE DEGLI ENDPOINT E DELLE COORTI DI ANALISI	62
2.3 DATI RACCOLTI.....	63
2.4 ANALISI STATISTICA	64
3. RISULTATI	67
3.1 STATISTICA DESCRITTIVA DELLA POPOLAZIONE DI STUDIO	67
3.1.1 CARATTERISTICHE ANAGRAFICHE.....	67
3.1.2 CARATTERISTICHE DELLE TERAPIE LOCOREGIONALI E SISTEMICHE	67
3.1.3 CARATTERISTICHE ISTOPATOLOGICHE	69
3.1.2 QUANTIFICAZIONE OSNA DEL LINFONODO SENTINELLA.....	70
3.1.4 EVENTI E FOLLOW-UP	72
3.2 ANALISI DEI TASSI DI SOPRAVVIVENZA SECONDO LO STATO OSNA.....	73
3.2.1 TASSI DI SOPRAVVIVENZA SECONDO IL MODELLO OSNA STANDARD A TRE LIVELLI	73
3.2.2 TASSI DI SOPRAVVIVENZA SECONDO IL MODELLO OSNA A DUE LIVELLI: NEGATIVO E POSITIVO (MICROMETASTASI CON MACROMETASTASI).....	75
3.2.3 TASSI DI SOPRAVVIVENZA SECONDO I CUT-OFF DI TOTAL TUMOR LOAD PROPOSTI IN LETTERATURA.....	77
3.2.4 TASSI DI SOPRAVVIVENZA SECONDO DIVERSI CUT-OFF ESPLORATIVI DI TOTAL TUMOR LOAD	79
3.3 REGRESSIONI DI COX SECONDO IL MODELLO OSNA A 2 LIVELLI	85
3.3.1 ANALISI UNIVARIATA	85
3.3.2 ANALISI MULTIVARIATA.....	86
3.3.3 VERIFICA DELL'ASSUNTO DEI RISCHI PROPORZIONALI	88
3.4 ANALISI DI CONTROLLO DELLA COORTE CON MICROMETASTASI	89
4. DISCUSSIONE.....	90
4.1 PROFILO DELLA POPOLAZIONE DI STUDIO E CONSIDERAZIONI PRELIMINARI	90
4.2 VALORE PROGNOSTICO DELLO STATO OSNA ALL'ANALISI DELLA SOPRAVVIVENZA ...	91

4.3 ANALISI ESPLORATIVA DEI CUT-OFF OTTIMALI DI TOTAL TUMOR LOAD	93
4.4 REGRESSIONI DI COX.....	93
4.5 COORTE CON MICROMETASTASI	95
4.6 CONCLUSIONI	95
5. BIBLIOGRAFIA	97
RINGRAZIAMENTI	124

ABSTRACT

Introduzione. La tecnica One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) consente la quantificazione molecolare del carico metastatico del linfonodo sentinella mediante misurazione delle copie di mRNA della citocheratina 19 (Total Tumor Load). Se il suo valore diagnostico e predittivo per lo stato dei linfonodi non sentinella è ampiamente validato, le evidenze sul valore prognostico del TTL per gli esiti oncologici a lungo termine restano limitate e necessitano di conferme su coorti indipendenti con follow-up adeguato.

Obiettivi. Lo studio si è proposto di valutare se la quantificazione OSNA del linfonodo sentinella correla con la sopravvivenza globale (OS) e con la sopravvivenza libera da malattia (DFS) in pazienti operate per carcinoma mammario in fase precoce. Sono stati inoltre messi a confronto i diversi modelli con cui il linfonodo può essere categorizzato: il modello standard a tre livelli, quello dicotomico negativo/positivo e quelli basati su soglie di TTL, sia derivate dalla letteratura sia individuate sulla presente casistica.

Materiali e metodi. È stato condotto uno studio osservazionale retrospettivo monocentrico su una coorte consecutiva di pazienti cN0, M0, non sottoposte a chemioterapia neoadiuvante, operate nel biennio 2018-2019 presso la Chirurgia Oncologica Senologica dell'AOU di Modena, con biopsia del linfonodo sentinella analizzato con tecnica OSNA. Dopo l'applicazione dei criteri di selezione, la coorte è risultata composta da 362 casi (359 per l'analisi della OS, 295 per la DFS). Sono state condotte analisi di sopravvivenza di Kaplan-Meier con test log-rank e regressioni di Cox univariate e multivariate.

Risultati. Con un follow-up mediano di 88,3 mesi, si sono registrati 44 decessi (12,2%) e 60 eventi DFS (16,6%). Le curve di Kaplan-Meier hanno mostrato un gradiente prognostico dose-dipendente coerente con il carico metastatico, senza raggiungere la significatività nel confronto a tre livelli (OS $p=0,083$; DFS $p=0,164$). Accorpendo micro- e macrometastasi, lo stato OSNA positivo si è associato a una riduzione significativa della sopravvivenza (OS a 7 anni 82,5% vs 91,0%, $p=0,026$; DFS 74,8% vs 85,8%, $p=0,059$). All'analisi univariata di Cox il linfonodo OSNA positivo ha quasi raddoppiato il rischio di morte (HR 1,94; $p=0,029$) e aumentato di oltre il 60% il rischio di recidiva o morte (HR 1,67; $p=0,062$), con un segnale superiore a quello del grado istologico G3, risultato privo di effetto. All'analisi multivariata corretta per età e pT, l'effetto si è attenuato, perdendo la significatività (OS HR 1,66, $p=0,109$; DFS HR 1,57, $p=0,112$). I cut-off di TTL con valore prognostico proposti in letteratura hanno mostrato un gradiente concorde ma non significativo; i cut-off ottimali individuati sulla casistica hanno perso significatività al test di permutazione, risultando attribuibili al caso.

Conclusioni. Il linfonodo sentinella OSNA positivo si conferma un fattore prognostico nel carcinoma mammario in fase precoce, con il principale discrimine collocato nel passaggio da negativo a positivo piuttosto che nella graduazione interna. La sua natura di fattore intermedio, che guida l'intensificazione terapeutica, comporta una verosimile sottostima del reale valore prognostico (treatment paradox). Nell'era della de-escalation della chirurgia ascellare, il Total

Tumor Load, disponibile per tutte le pazienti indipendentemente dalla dissezione, potrebbe affermarsi come marcatore surrogato dello stato pN per personalizzare le terapie adiuvanti.

1. INTRODUZIONE

1.1 TUMORE DELLA MAMMELLA

1.1.1 EPIDEMIOLOGIA

Epidemiologia mondiale

Il tumore della mammella è il cancro più comune nelle donne a livello mondiale, rappresentando quasi 1 caso su 4 di tutti i tumori femminili nonché un rischio lifetime di sviluppare carcinoma mammario di circa 1 donna su 8. Il carcinoma mammario costituisce la quarta causa di morte per cancro a livello mondiale considerando entrambi i sessi, e la prima causa di morte oncologica nella donna.(1,2)

I tassi di incidenza più elevati si registrano nei Paesi ad alto reddito, ovvero Nord America, Europa occidentale, Australia e Nuova Zelanda.(3) Prendendo in considerazione l'Europa, nel 2022 la Francia ha registrato il tasso di incidenza standardizzato per età più elevato del continente (105,4 per 100.000), mentre Cipro ha avuto il più alto tasso di mortalità standardizzato per età (18.6/100,000).(4)

A livello mondiale, i dati del Global Burden of Disease 2023 mostrano che l'incidenza del tumore mammario aumenta con l'età, raggiungendo il picco nella fascia di età 85-89 anni. Il tasso di incidenza grezzo nelle donne in postmenopausa (≥ 55 anni) era 160,7 per 100.000, oltre tre volte superiore rispetto al tasso nelle donne in premenopausa di 50,4 per 100.000.(2)

Paradossalmente, sebbene i Paesi ad alto reddito presentino i tassi di incidenza più elevati (75,7 per 100.000), sono i Paesi a basso reddito a mostrare i tassi di mortalità più elevati (24,1 per 100.000), a causa del limitato accesso a screening, diagnosi precoce e trattamenti efficaci.(2) Nei Paesi ad alto reddito, la sopravvivenza netta a 5 anni raggiunge l'85-90%, mentre nei Paesi a basso e medio reddito varia dal 40% al 60%.(5,6) Nei paesi dell'Africa subsahariana, meno del 30% dei casi viene diagnosticato in stadio I o II, con una grande proporzione diagnosticata in stadio metastatico avanzato.(7)

In Italia, il carcinoma mammario rappresenta il tumore più frequentemente diagnosticato: nel 2024 sono stati stimati 53.686 nuovi casi, confermandosi la neoplasia più comune in entrambi i sessi.(8)

Tendenze temporali e prospettive future

Nei Paesi ad alto reddito, l'andamento dell'incidenza tra la fine degli anni '80 e i primi anni 2000 è il risultato di un incremento transitorio per via dell'introduzione dei programmi di screening mammografico organizzato. La sovradiagnosi di una quota di lesioni precliniche preesistenti nella popolazione, alcune delle quali non sarebbero mai diventate clinicamente evidenti nel corso della vita della paziente, ha generato un picco artificiale dei tassi di incidenza.(9) D'altra parte, l'analisi del Global Burden of Disease 2023 mostra che nei Paesi ad alto reddito il tasso di mortalità standardizzato per età del carcinoma mammario è diminuito

di quasi il 30% tra il 1990 e il 2023, grazie a decenni di investimenti in screening, diagnosi precoce e trattamento.(2)

Il secondo fenomeno epidemiologico che sta influenzando l'incidenza, strutturalmente diverso, è un incremento reale e progressivo, attribuibile alla crescente diffusione nelle società occidentali dei principali fattori di rischio modificabili. Questa tendenza, in atto da anni, è destinata a persistere e ad accentuarsi nei decenni futuri: le proiezioni globali al 2050 stimano un aumento del 38% dei nuovi casi rispetto al 2022, con prospettive particolarmente critiche di gestione sanitaria.(10)

Anche in Italia, l'incidenza è in aumento, mentre la mortalità ha mostrato una riduzione del 16,2% nell'arco di 15 anni (2006–2021).(8)

Inoltre, sebbene l'incidenza complessiva aumenti con l'età, le tendenze temporali recenti del 2012-2021 mostrano un aumento più rapido dell'incidenza nelle donne <50 anni rispetto a quelle ≥50 anni, suggerendo dei cambiamenti nei fattori di rischio che colpiscono in modo sproporzionato le donne più giovani.(11)

L'analisi Global Burden of Disease del 2021 mostra come Africa e Asia abbiano tassi di mortalità per carcinoma mammario in costante aumento, in netto contrasto con il declino osservato in America e Europa, principalmente per la limitata implementazione dei programmi di screening.(12) Kim et al. hanno stimato un incremento del 38% di nuovi casi e del 68% di decessi entro il 2050, con un impatto sproporzionato sui Paesi a basso reddito. Questi incrementi saranno determinati principalmente dalla crescita e dall'invecchiamento della loro popolazione e dall'adozione progressiva di stili di vita occidentali.(10)

Epidemiologia del tumore della mammella maschile

Il carcinoma mammario maschile è una neoplasia rara che rappresenta circa l'1% di tutti i casi di carcinoma mammario e lo 0,3% di tutte le neoplasie diagnosticate nel sesso maschile. Il rischio lifetime di carcinoma mammario per un uomo è di circa 1:1000, rispetto a 1:8 per una donna. L'età mediana alla diagnosi nel sesso maschile è di circa 67 anni, circa 5 anni superiore rispetto al sesso femminile.(13) La sopravvivenza relativa a 5 anni è inferiore negli uomini rispetto alle donne (84% versus 91%), con una marcata variabilità in base allo stadio alla diagnosi: 98,7% per la malattia localizzata e 25,9% per la malattia a distanza.(14)

Secondo i dati del Global Burden of Disease 2021, anche per il tumore della mammella maschile il trend è in aumento: il numero di casi incidenti è quasi triplicato negli ultimi tre decenni, con un tasso di incidenza standardizzato per età passato da 0,525 per 100.000 nel 1990 a 0,941 per 100.000 nel 2021.(15)

1.1.2 FATTORI DI RISCHIO E FATTORI PROTETTIVI

Fattori di rischio

La maggior parte dei fattori di rischio riconosciuti per il carcinoma mammario può essere interpretata come espressione dell'accumulo di danni genetici ed epigenetici a carico della unità terminale duttulo-lobulare della mammella.(16)

L'American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) conferma che, dopo il sesso femminile, l'età avanzata costituisce il principale fattore di rischio per il carcinoma mammario, e che la maggior parte delle donne in cui viene diagnosticato un carcinoma invasivo non presenta fattori di rischio identificabili al di fuori dell'età stessa. L'aumento del rischio correlato all'età riflette l'accumulo progressivo di mutazioni somatiche nel DNA delle cellule epiteliali mammarie, nonché la prolungata esposizione agli altri fattori di rischio nel corso della vita.(16,17) Inoltre è da tenere in considerazione anche l'elevata densità mammografica, poiché essa riflette una maggiore quantità di tessuto epiteliale bersaglio per l'accumulo di alterazioni genetiche ed epigenetiche.(18)

L'esposizione agli estrogeni endogeni rappresenta un determinante fondamentale, in particolare per i tumori con recettori ormonali positivi (HR+). La maggior parte dei carcinomi mammari è stimolata dagli estrogeni; i tumori con recettori estrogenici negativi evolvono da lesioni con recettori estrogenici positivi, piuttosto che insorgere de novo.(19) L'esposizione estrogenica cumulativa è modulata da diversi fattori riproduttivi, che determinano il numero totale di cicli mestruali nella vita di una donna e, di conseguenza, la durata dell'esposizione agli steroidi sessuali endogeni.(20) Il menarca precoce, definito come la comparsa della prima mestruazione prima dei 12-13 anni, comporta un inizio anticipato dell'esposizione ciclica agli estrogeni e una tendenza a presentare livelli basali di estradiolo più elevati durante i cicli mestruali regolari. La menopausa tardiva, generalmente definita come l'insorgenza della menopausa dopo i 51-55 anni, è analogamente associata ad un aumento del rischio.(21) L'ACOG identifica la nulliparità e l'intervallo prolungato tra menarca e prima gravidanza come fattori di rischio per il carcinoma mammario HR+.(17) La valutazione del rischio basale di carcinoma mammario è raccomandata in particolare prima dell'inizio della terapia ormonale sostitutiva in menopausa, considerando sia i fattori modificabili sia quelli non modificabili.(22)

L'obesità rappresenta un fattore di rischio consolidato per il carcinoma mammario estrogeno-dipendente nelle donne in postmenopausa. Dopo la menopausa infatti, il tessuto adiposo bianco diventa la principale sede di sintesi estrogenica; nelle donne obese la produzione di estrogeni risulta aumentata a causa dell'iperespressione dell'aromatasi (CYP19A1), l'enzima limitante nella conversione degli androgeni in estrogeni.(23) Anche la sindrome metabolica è associata a un incremento del rischio in postmenopausa. In questo caso i meccanismi patogenetici coinvolgono non solo l'aromatasi, ma anche l'iperinsulinemia e l'aumento dei fattori di crescita insulino-simili che esercitano effetti anti-apoptotici.(24,25)

Il consumo di alcol è un fattore di rischio modificabile ben consolidato, con una relazione dose-risposta lineare.(26) Invece, la relazione tra fumo di sigaretta e carcinoma mammario è stata

oggetto di un ampio dibattito scientifico. La più grande rianalisi collaborativa di dati individuali ha dimostrato che, quando le analisi sono ristrette alle donne che non consumano alcol, il fumo non è associato in modo indipendente al rischio. Tuttavia, il fumo è incluso tra i fattori di rischio per il carcinoma mammario nelle linee guida NCCN e in diverse revisioni della letteratura.(16,27,28)

L'esposizione a radiazioni ionizzanti rappresenta un fattore di rischio ben documentato. Studi epidemiologici condotti su diverse popolazioni esposte, tra cui le pazienti sottoposte a radioterapia per patologie benigne e le donne trattate con irradiazione toracica per linfoma di Hodgkin, hanno dimostrato che la mammella è tra i tessuti più radiosensibili. Il rischio è massimo per le esposizioni che avvengono durante l'infanzia e l'adolescenza, periodo in cui la mammella è in fase di attiva proliferazione e differenziazione.(29,30)

L'American Cancer Society stima che la storia familiare di carcinoma mammario e le predisposizioni genetiche ereditarie rappresentano i fattori di rischio più forti per la malattia.(31) Per quanto riguarda la storia familiare, il rischio aumenta con il numero di parenti di primo e secondo grado affetti dalla malattia.(32) Infine, circa il 5-10% dei carcinomi mammari è attribuibile a una predisposizione genetica ereditaria. Il rischio genetico è attribuibile soprattutto a varianti patogenetiche dei geni BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, RAD51C, RAD51D e BARD1, nonché a varianti di geni che determinano sindromi predisponenti il tumore della mammella come TP53 (Sindrome di Li-Fraumeni), PTEN (Sindrome di Cowden), CDH1 (Cancro Gastrico Diffuso Ereditario), STK11 (sindrome Peutz–Jeghers) e NF1 (neurofibromatosi di tipo 1).(33,34)

Varianti patogenetiche di BRCA1 e BRCA2

Le varianti patogenetiche germinali dei geni ad alta penetranza BRCA1 e BRCA2 rappresentano la causa più frequente di carcinoma mammario ereditario, rendendo conto di circa il 20% del rischio ereditabile complessivo. BRCA1 e BRCA2 codificano proteine essenziali per la riparazione del DNA mediante ricombinazione omologa; la loro inattivazione determina instabilità genomica e predisposizione alla trasformazione neoplastica.

Oltre a determinare un rischio aumentato e a richiedere quindi uno screening intensificato rispetto alla popolazione generale, la presenza della variante patogenetica BRCA modifica anche prognosi, terapia adiuvante e follow-up (sezioni 1.1.8, 1.1.9, 1.2.6, 1.2.7).(34)

Le linee guida ASCO-ASTRO-SSO riportano un rischio lifetime complessivo per le portatrici di mutazioni BRCA di circa il 70%, con stime variabili dal 50% al 90% a seconda della popolazione studiata, del gene specifico, del disegno dello studio e del metodo di analisi.(35) Inoltre, le donne portatrici di varianti patogenetiche di BRCA1 e BRCA2 presentano un rischio di sviluppare carcinoma mammario controlaterale significativamente superiore rispetto alla popolazione generale affetta da tumore della mammella sporadico.(36)

I carcinomi BRCA1-associati sono prevalentemente carcinomi duttali infiltranti di alto grado istologico; circa il 70–85% di questi tumori presenta un fenotipo triplo-negativo.(37)

Fattori protettivi

L'allattamento al seno rappresenta uno dei fattori protettivi più solidamente documentati. L'effetto protettivo appare particolarmente rilevante per il sottotipo triplo-negativo.(38,39)

L'attività fisica moderata-vigorosa è riconosciuta come fattore protettivo sia in premenopausa sia in postmenopausa.(40)

La chemioprevenzione con modulatori selettivi del recettore estrogenico (SERM) e inibitori dell'aromatasi rappresenta una strategia consolidata per le donne ad alto rischio.(41,42) Tuttavia, questi farmaci si associano a effetti avversi significativi, quindi la scelta dell'agente deve essere individualizzata in base allo stato menopausale, alle comorbidità e al profilo di rischio specifico della paziente.(43)

1.1.3 CLASSIFICAZIONE ISTOLOGICA

L'unità terminale duttulo-lobulare (terminal duct lobular unit, TDLU) rappresenta la struttura microanatomica funzionale della mammella ed è storicamente riconosciuta come il sito di origine della grande maggioranza dei carcinomi mammari.(44)

Il sistema di riferimento internazionale per la tipizzazione istologica è la 5ª edizione della classificazione dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO), pubblicata dall'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC) nel 2019.(45)

Forme in situ

Tra le forme in situ, il carcinoma duttale in situ (DCIS) rappresenta la lesione più rilevante dal punto di vista clinico. Prima dell'implementazione dello screening mammografico, il DCIS rappresentava un riscontro raro; successivamente, la sua incidenza è aumentata in modo esponenziale. Attualmente il 15-25% di tutti i tumori mammari diagnosticati mediante screening sono DCIS.(46) Il DCIS viene classificato mediante il sistema di grading di Holland in 3 gradi (basso, intermedio e alto), principalmente in base alle atipie nucleari.(47)

Il carcinoma lobulare in situ (LCIS) è definito come una proliferazione non invasiva di cellule epiteliali atipiche e discoesive. Esso rappresenta uno spettro morfologico comprendente tre varianti principali.(48) L'istotipo LCIS è un reperto istologico che viene diagnosticato molto raramente e accidentalmente, in circa l'1% di tutte le biopsie mammarie, poiché non causa manifestazioni radiologiche.(49) Dall'8ª edizione della stadiazione AJCC il carcinoma lobulare in situ non è più considerato un Tis ed è stato rimosso dal sistema di classificazione (sezione 1.1.8). Non è più considerato una lesione cancerosa che prelude al carcinoma invasivo, ma semplicemente un fattore di rischio.(50) Questa riclassificazione non è universalmente condivisa, e in letteratura permane un dibattito sulla natura biologica del LCIS.(51)

Forme invasive

Il carcinoma invasivo di tipo non speciale (NST), precedentemente noto come carcinoma duttale invasivo, rappresenta la forma istologica più comune di carcinoma mammario. Secondo i dati del registro Surveillance, Epidemiology, and End Results (registro SEER, il principale registro tumori nazionale degli Stati Uniti), su tutti i casi di carcinoma mammario diagnosticati tra il 2000 e il 2021, l'85,1% erano carcinomi duttali infiltranti.(52) Il termine "tipo non speciale" è stato adottato dalla classificazione WHO, per comprendere tutti i carcinomi invasivi che non presentano caratteristiche morfologiche sufficienti per essere classificati come "tipo speciale". La 5ª edizione della classificazione WHO inoltre ha riclassificato diverse entità, precedentemente considerate sottotipi separati, come pattern rari del carcinoma NST.(53)

Il carcinoma lobulare invasivo (ILC) è il secondo istotipo più frequente, rappresentando il 10-15% di tutti i carcinomi mammari invasivi.(54) La caratteristica patognomonica dell'ILC è la perdita dell'espressione della proteina di adesione cellulare E-caderina, codificata dal gene CDH1, che determina il tipico pattern di crescita discoesivo, con cellule disposte in fila indiana e disperse nello stroma.(55) La perdita di E-caderina distingue le neoplasie lobulari (E-caderina-negative) dalle neoplasie duttali (E-caderina-positive), e l'immunoistochimica per E-caderina è utilizzata come ausilio diagnostico nei casi istologicamente dubbi.(56) Sebbene tipicamente l'ILC sia un tumore di tipo Luminale, un sottotipo molecolare associato a prognosi più favorevole, esso presenta significative sfide nella gestione clinica poiché spesso si presenta multifocale, multicentrico e bilaterale alla diagnosi, richiedendo un imaging più accurato.(54,57)

I carcinomi di tipo speciale rappresentano tutti gli altri istotipi di carcinoma della mammella, ovvero quelli che non sono né carcinoma NST invasivo né carcinoma lobulare invasivo. Fra questi si annoverano principalmente gli istotipi tubulare, adenoido-cistico, midollare, metaplastico, micropapillare, mucinoso, cribriforme e l'istotipo misto.(58)

Tutti i carcinomi mammari invasivi devono essere sottoposti a grading istologico. Il grado di Nottingham, detto anche sistema di grading di Scarff-Bloom-Richardson modificato secondo Elston-Ellis, è il metodo raccomandato a livello internazionale. Esso classifica i carcinomi invasivi in tre gradi (G1, G2, G3) e viene calcolato assegnando un punteggio da 1 a 9 a tre parametri morfologici: formazioni tubulari, pleiomorfismo nucleare e mitosi.(59)

1.1.4 CLASSIFICAZIONE MOLECOLARE

Espressione recettoriale e sottotipi molecolari

All'inizio degli anni 2000, i lavori di Perou, Sørli e colleghi hanno rivoluzionato la comprensione del carcinoma mammario, dimostrando che questa neoplasia non costituisce una singola entità ma comprende quattro distinti sottotipi molecolari, clinicamente rilevanti. Questi sottotipi sono stati identificati mediante analisi di profilazione dell'espressione genica, utilizzando tecniche di microarray e clustering dei dati.(60–62)

Tuttavia, poiché l'applicazione della profilazione dell'espressione genica nella pratica clinica non è economica né pratica, numerosi ricercatori hanno studiato l'utilizzo di surrogati immunoistochimici come sostituti per determinare la classificazione molecolare. I surrogati più comunemente utilizzati sono il recettore degli estrogeni (ER), il recettore del progesterone (PR), il recettore 2 del fattore di crescita epidermico umano (HER2) e la proliferazione tumorale misurata mediante Ki-67.(63) Dal punto di vista della procedura tecnica, la positività a HER2 viene valutata inizialmente con l'immunoistochimica, passando poi all'ibridazione in situ fluorescente (FISH) per i casi equivoci.(64)

Attualmente i sottotipi molecolari sono quindi così caratterizzati:

- Luminale A. È caratterizzato da elevata espressione di geni epiteliali luminali, elevata espressione di recettori ER e PR e basso grado istologico. Questi tumori presentano bassa proliferazione cellulare.
- Luminale B. È caratterizzato da minore espressione di recettori ER e PR e alto grado istologico. Questi tumori si distinguono dal sottotipo Luminale A anche per l'elevata espressione di geni correlati alla proliferazione, che si traduce in un'alta proliferazione al Ki-67. Hanno una espressione variabile della proteina di membrana HER-2.
- HER2-positivo. È caratterizzato dall'amplificazione e dall'elevata espressione del gene ERBB2 e di numerosi altri geni dell'amplicone ERBB2, che si traduce in un'alta espressione della proteina di membrana HER-2. È negativo ai recettori ormonali.
- Basal-like/triplo negativo. È caratterizzato dall'assenza di ER, PR e HER2. Questi tumori esprimono marcatori tipici delle cellule mioepiteliali del tessuto mammario normale, come CK5, e presentano elevata espressione di vari recettori per fattori di crescita, come EGFR. Sono altamente proliferativi.(65,66)

In uno studio di popolazione che ha analizzato 320.124 donne diagnosticate con tumore della mammella dal 2010 al 2016, il sottotipo Luminale A rappresenta la forma più frequente di carcinoma mammario (circa 72% dei casi). È seguito dal sottotipo triplo negativo (11,3% dei casi), dal sottotipo Luminale B (11% dei casi) e infine dal sottotipo HER2-positivo (4,8% dei casi).(67)

Ciascun sottotipo molecolare presenta caratteristiche proprie in termini di tropismo d'organo per metastasi, tassi di sopravvivenza e di recidiva, terapia sistemica ottimale (sezioni 1.1.5, 1.1.9, 1.2.2, 1.2.5).

Ambiguità del dato di proliferazione al Ki-67 e razionale dei test genomici multigenici

Per quanto riguarda il Ki-67, la mancanza di standardizzazione per la distinzione tra tumori luminali A e luminali B rappresenta una difficoltà riconosciuta nella pratica clinica quotidiana. L'International Ki67 in Breast Cancer Working Group ha stabilito che l'utilità clinica di questo marcatore è attualmente riconosciuta nei casi con valori chiaramente bassi ($\leq 5\%$) o

chiaramente elevati ($\geq 30\%$); valori intermedi rimangono di difficile interpretazione a causa della scarsa riproducibilità di questa tecnica.(68)

Per individuare correttamente i luminali B, in caso di una “zona grigia” di diagnosi con Ki-67 intermedio, si può ricorrere ai test genomici multigene, detti anche multigene prognostic test (MPT) o Multigene assay (MGA). Essi sono test prognostici e predittivi che valutano il profilo di espressione genica del tumore mediante analisi del suo RNA, nella biopsia o nel pezzo chirurgico. Stimando il rischio di recidiva, solitamente più alto in caso di tumore Luminale B, affinano la prognosi e orientano la decisione terapeutica sull’uso della chemioterapia (sezioni 1.1.9, 1.2.6).(66,69)

Sul mercato sono disponibili svariati test messi a punto su studi retrospettivi osservazionali, ma finora solo due test sono stati validati con trial prospettici randomizzati: Oncotype DX (Exact Sciences Corp., USA) e MammaPrint (Agendia NV, Olanda). Ciascun test analizza set genici differenti, utilizza piattaforme tecnologiche distinte e genera punteggi di rischio basati su criteri specifici: non sono intercambiabili e ciascuno fornisce informazioni differenti per popolazioni di pazienti diverse. Oncotype DX utilizza una PCR con trascrittasi inversa (RT-PCR) per analizzare un pannello di 21 geni: il risultato è espresso con un punteggio detto Recurrence Score (RS), che varia da 0 a 100. MammaPrint invece utilizza una tecnica microarray per analizzare un pannello di 70 geni: il risultato è espresso con un punteggio che esprime il rischio di recidiva variando da -1 a +1.(69)

Attualmente, Oncotype Dx è il test più diffuso. Il St. Gallen consensus panel del 2019 raccomanda l'uso di Oncotype DX per i tumori HR-positivi e HER2-negativi, in cui sussista incertezza sulla somministrazione della chemioterapia dopo aver valutato il Ki-67. (70) Tale consenso è stato successivamente integrato nelle linee guida NCCN, ESMO e AIOM, nonché nel Protocollo Diagnostico Terapeutico Assistenziale (PDTA) della Regione Emilia-Romagna dedicato al tumore della mammella.(71–74) Alla luce del trial TAILORx e RxPONDER, il test oggi è raccomandato solo per pazienti in premenopausa con 0 linfonodi positivi o per pazienti in postmenopausa con 0-3 linfonodi positivi.(75,76) In Italia, dopo un iniziale periodo in cui il test era rimborsato autonomamente dalle singole Regioni, Oncotype DX è stato incluso tra le prestazioni del Servizio Sanitario Nazionale a partire dal 2021.(77)

Il test Oncotype DX è stato inoltre incorporato dall'8ª edizione della classificazione AJCC, all'interno della nuova stadiazione prognostica (sezione 1.1.8). Pazienti T1-T2, N0, ER+, HER2- e con Recurrence Score < 11 vengono assegnate di default allo stadio prognostico IA. Ciò riflette una sempre maggiore importanza dei parametri genetici accanto ai tradizionali parametri prognostici anatomici e patologici.(50)

1.1.5 CLINICA

Segni e sintomi locoregionali

Nell'era moderna dello screening mammografico diffuso, le modalità di presentazione del carcinoma mammario hanno subito una significativa evoluzione. Negli Stati Uniti, più della metà dei tumori mammari viene diagnosticata attraverso la mammografia di screening: il 66% dei carcinomi mammari è confinato alla mammella al momento della diagnosi, mentre un ulteriore 25% presenta diffusione ai linfonodi regionali.(31)

Il dolore mammario, sebbene meno specifico, rappresenta uno dei sintomi più frequentemente riportati dalle pazienti, con una prevalenza del 49,3% tra coloro che riferiscono sintomatologia mammaria.(78)

La massa mammaria palpabile rappresenta il sintomo di presentazione più comune tra i tumori non diagnosticati mediante screening.(79) Essa presenta caratteristiche cliniche specifiche che devono essere documentate, includendo dimensioni, consistenza tissutale, distanza dal margine areolare e posizione secondo il quadrante orario.(80) Secondo le linee guida del NCCN, i sintomi palpabili includono non solo la massa vera e propria, ma anche l'ispessimento asimmetrico di nuova insorgenza, la nodularità asimmetrica, l'ingrandimento asimmetrico della mammella o le modificazioni della forma e del contorno mammario.(81)

Le modificazioni del complesso areola-capezzolo costituiscono un'altra importante categoria di sintomi di presentazione. L'inversione o la retrazione del capezzolo di nuova insorgenza, anche in assenza di massa palpabile, rappresenta un segno che necessita di approfondimento.(82) Anche la secrezione dal capezzolo richiede una valutazione specifica secondo protocolli diagnostici dedicati, per distinguere le forme fisiologiche da quelle patologiche.(80)

Le alterazioni cutanee comprendono diverse presentazioni. Il segno della "peau d'orange" (cute a buccia d'arancia), l'edema, l'eritema, l'escoriazione del capezzolo, la desquamazione, l'eczema e le ulcerazioni cutanee costituiscono segni di allarme, che richiedono un'immediata valutazione diagnostica. Spesso possono indicare la presenza di carcinoma infiammatorio, una forma rara ma aggressiva e a rapida insorgenza.(83)

La presenza di masse ascellari costituisce una modalità di presentazione documentata in letteratura, sebbene rara. Il carcinoma mammario occulto che si presenta come metastasi linfonodale ascellare, in assenza di una lesione mammaria primaria all'esame clinico o alla mammografia, costituisce lo 0,3-1,0% di tutti i carcinomi mammari.(84)

Segni e sintomi a distanza

Nell'era moderna dello screening solo il 6% delle pazienti si presenta con malattia metastatica alla diagnosi.(31)

In un'analisi condotta su 4.932 pazienti del database SEER, calcolando la prevalenza delle singole sedi metastatiche, Xiong et al. hanno mostrato che l'osso risultava l'organo più

frequentemente coinvolto (65,1% dei casi), seguito da polmone (31,4%), fegato (26,0%) e cervello (8,8%), con il 33,5% dei pazienti che presentava interessamento metastatico di più organi simultaneamente.(85) In un'analisi condotta su 200.558 pazienti del database SEER, Zhang et al. hanno evidenziato un marcato organotropismo in funzione del sottotipo molecolare. Il sottotipo luminale A mostrava una netta predilezione per le metastasi ossee, rappresentando il 60,2% delle metastasi a singola sede ossea, mentre i sottotipi HER2-positivo e triplo-negativo erano più frequentemente associati rispettivamente a metastasi epatiche (34,5%) e cerebrali (9,8%). Le metastasi polmonari mostravano una distribuzione uniforme tra i sottotipi.(86)

Le metastasi ossee si manifestano clinicamente con dolore osseo, fratture patologiche o compressione midollare. Quelle polmonari producono dispnea. Quelle epatiche si manifestano nella maggioranza dei casi con dolore epigastrico. Infine, quelle cerebrali producono un ampio spettro di manifestazioni cliniche, includendo sintomi da lesione occupante spazio o paralisi dei nervi cranici, oppure in casi più rari anche diabete insipido, deficit motorio focale o meningite.(87)

1.1.6 DIAGNOSI

Anamnesi e esame obiettivo

La valutazione clinica del tumore della mammella si avvia con l'anamnesi. Essa costituisce il primo passo del percorso diagnostico noto come "triple assessment", che integra informazioni derivanti dall'esame clinico, dall'imaging radiologico e dalla biopsia. Lo scopo dell'anamnesi non è tanto la diagnosi, quanto la stratificazione dei fattori di rischio. Essa deve comprendere età della paziente, stato menopausale, storia di patologie mammarie benigne, eventuali neoplasie pregresse, interventi chirurgici mammari (inclusi quelli estetici), uso di terapia ormonale sostitutiva o contraccettivi orali, abitudini di vita. La storia familiare di carcinoma mammario in un parente di primo o di secondo grado è altrettanto importante.(72,88) La documentazione della densità mammaria, quando disponibile da mammografie precedenti, deve essere considerata nella valutazione del rischio.(81)

L'ispezione viene condotta con la paziente seduta di fronte all'esaminatore, a cui viene chiesto di posizionare le mani sui fianchi e poi di sollevarle sopra la testa. Si valutano dimensioni, forma, simmetria e caratteristiche del capezzolo, confrontandoli con l'esame precedente e con la mammella controlaterale. Vanno ricercati ispessimenti cutanei, retrazioni o aderenze al tessuto sottostante, che possono essere accentuati chiedendo alla paziente di contrarre i muscoli pettorali con le mani sui fianchi.(89)

La palpazione viene eseguita con la paziente in posizione supina, con il braccio omolaterale sollevato dietro la testa per appiattire il tessuto mammario. Si utilizza il polpastrello delle dita in posizione lievemente a coppa, procedendo dagli strati superficiali a quelli profondi, a

raggiera o a cerchi concentrici. Si documentano consistenza generale, eventuali masse o aree dolenti con le relative caratteristiche (dimensioni, forma, mobilità, delimitazione, profondità).

Si valuta il complesso areola-capezzolo, compresa l'eventuale presenza di secrezione evocata.(89) Le caratteristiche che sollevano preoccupazione per una patologia sottostante includono una secrezione persistente e riproducibile all'esame obiettivo, spontanea, unilaterale, proveniente da un singolo dotto, e di aspetto chiaro, sieroso o ematico.(80)

Al termine dell'esame mammario si procede alla palpazione dell'ascella e della regione sovraclaveare, alla ricerca di linfadenopatia. I linfonodi patologici si presentano tipicamente lievemente ingranditi e di consistenza aumentata rispetto alla normale texture elastica. In caso di positività, si documentano numero, dimensioni, mobilità e delimitazione. Occasionalmente l'intera ascella appare "piena" in assenza di linfonodi definiti, il che può riflettere l'anatomia della paziente o indicare la presenza di linfonodi confluenti.(89)

Mammografia e Tomosintesi Digitale della Mammella

La mammografia rappresenta lo strumento diagnostico fondamentale per la rilevazione precoce del carcinoma mammario, con una sensibilità che varia tra il 77% e il 95% e una specificità compresa tra il 94% e il 97%.(90) Lo studio mammografico di base prevede l'acquisizione di 2 proiezioni standard per ciascuna mammella, ovvero la proiezione craniocaudale e la proiezione mediolaterale obliqua.(91)

L'accuratezza diagnostica della mammografia dipende in larga misura dalla densità radiografica del tessuto mammario. La sensibilità diminuisce progressivamente con l'aumentare della densità della mammella: è stimata al 90-93% nelle mammelle adipose, diminuisce al 78-82% nelle mammelle eterogeneamente dense e scende al 62% o meno nelle mammelle estremamente dense.(92)

La Tomosintesi Digitale della Mammella (DBT) ha esteso le potenzialità della metodica. Essa acquisisce multiple immagini in proiezione a bassa dose, con lo strumento che trasla ad arco, ottenendo ricostruzioni volumetriche a strati di 1 mm. Essa riduce l'effetto di sovrapposizione tissutale tipico della mammografia bidimensionale.(91) Una meta-analisi del 2025 su 11 studi ha dimostrato che la sensibilità della DBT è superiore a quella della mammografia 2D, mentre le specificità sono simili.(93) Si preferisce associare la DBT alla mammografia in caso di dubbio diagnostico per carcinomi mammari multifocali, multicentrici e controlaterali, per i quali presenta sensibilità superiore.(94)

Il consenso multidisciplinare di Lucerna sottolinea che la mammografia e la DBT presentano un campo visivo limitato per la valutazione dell'intera ascella, e quindi sono imperfette nell'identificazione del coinvolgimento linfonodale.(95) Uno studio del 2024 ha dimostrato che la proiezione mediolaterale obliqua visualizza un numero significativamente inferiore di linfonodi ascellari rispetto a una proiezione dedicata dell'ascella, confermando che la visualizzazione ascellare nella mammografia convenzionale è parziale.(96)

La mammografia e la DBT non presentano controindicazioni assolute, nemmeno durante la gravidanza o l'allattamento.(81)

Ecografia

L'ecografia costituisce lo strumento diagnostico complementare alla mammografia e alla risonanza magnetica, con il vantaggio di essere priva di radiazioni ionizzanti. Essa è particolarmente efficace nel distinguere le lesioni mammarie tra cisti benigne e masse solide.(97) Il contrasto tra il tessuto ghiandolare di fondo e il carcinoma risulta più marcato all'ecografia rispetto alla mammografia, rappresentando uno strumento particolarmente utile nelle donne con seno denso che hanno ottenuto una mammografia negativa.(98) Una revisione Cochrane ha dimostrato che, nelle donne con mammelle dense, la mammografia combinata con l'ecografia rileva 3 tumori in più ogni 1000 donne rispetto alla sola mammografia.(99) L'ecografia è la metodica di imaging di prima scelta nelle donne giovani di età inferiore ai 40 anni, proprio per la maggiore densità del tessuto mammario in queste pazienti.(100)

L'American College of Radiology raccomanda l'ecografia come metodica più consolidata per la valutazione dell'ascella.(101) Nella valutazione dei linfonodi ascellari, l'approccio multiparametrico che combina ecografia convenzionale, elastografia shear wave quantitativa e analisi della vascolarizzazione è superiore all'approccio con singolo parametro.(102)

L'ecografia inoltre viene routinariamente utilizzata per guidare le biopsie mammarie.(97) Una meta-analisi del 2023 ha confermato anche che l'agoaspirato e la biopsia ecoguidati hanno elevata accuratezza per i linfonodi ascellari sospetti.(103)

Risonanza magnetica mammaria con mezzo di contrasto

La risonanza magnetica (RM) mammaria è l'imaging con maggiore sensibilità per la rilevazione del carcinoma mammario tra tutte le tecniche diagnostiche attualmente disponibili. La base tecnica consiste in una sequenza pesata in T1 con mezzo di contrasto, sebbene possano essere utilizzate anche sequenze per permettere la valutazione multiparametrica e migliorare la caratterizzazione delle lesioni. Data la sua elevata sensibilità, viene utilizzata come esame di secondo livello in una varietà di contesti clinici.(104)

Essa è la metodica di scelta per il completamento della stadiazione preoperatoria, con particolare utilità nel rilevare la malattia multifocale, multicentrica e controlaterale (in caso di carcinoma lobulare invasivo) o nel selezionare le pazienti candidate alla radioterapia parziale della mammella.(105–107)

Nelle pazienti eligibili a terapia sistemica neoadiuvante, viene utilizzata per valutare il Residual Cancer Burden (RCB) prima e dopo il trattamento (sezione 1.2.2).(108)

È consigliata come strumento diagnostico aggiuntivo nelle pazienti con secrezione patologica del capezzolo, quando l'imaging convenzionale con mammografia ed ecografia risulta inconcludente.(109)

Infine, molteplici studi dagli anni 2000 in poi l'hanno identificata come modalità di screening privilegiata per le donne con rischio genetico. Essa presenta una sensibilità superiore rispetto alla mammografia per qualsiasi tipo di tumore. Nelle donne sottoposte a screening con RM mammaria, questa diventa l'esame di riferimento principale, mentre mammografia ed ecografia assumono un ruolo complementare.(110)

Sistema BI-RADS

Il sistema BI-RADS (Breast Imaging Reporting and Data System) è un sistema standardizzato sviluppato dall'American College of Radiology per classificare i reperti dell'imaging mammario, stimare il rischio di malignità e fornire raccomandazioni uniformi. Il sistema è applicato a mammografia, ecografia e RM mammaria e classifica i reperti in 7 categorie (da BI-RADS 0 a BI-RADS 6), ciascuna con una probabilità di malignità specifica e raccomandazioni gestionali associate.(111) La versione attualmente in uso del sistema BI-RADS è la 5ª, pubblicata nel 2016.(112)

Biopsia e caratterizzazione istopatologica

La biopsia core-needle (CNB) e la biopsia vacuum-assisted (VAB), chiamata anche mammotome, rappresentano due tecniche percutanee distinte per la diagnosi delle lesioni mammarie, con differenze significative in termini di accuratezza diagnostica e indicazioni cliniche. Entrambe le tecniche possono essere eseguite sotto guida ecografica, stereotassica o RM. La biopsia core-needle (CNB) utilizza aghi a molla che prelevano cilindri di tessuto; la procedura richiede generalmente 3-4 prelievi per ottenere un'accuratezza diagnostica elevata. La biopsia vacuum-assisted (VAB) utilizza aghi di calibro maggiore con un sistema di aspirazione a vuoto; consente di prelevare campioni tissutali più voluminosi attraverso una singola inserzione dell'ago.(113)

La biopsia è indispensabile per poter effettuare la diagnosi, per stimare la prognosi e per orientare la terapia (sezioni 1.1.4, 1.1.9, 1.2.6). Il referto anatomopatologico della biopsia deve includere, principalmente:

- tipo istologico;
- grado istologico;
- espressione recettoriale e indice di proliferazione Ki-67, che identificano il sottotipo molecolare;
- test Oncotype Dx, per le pazienti eleggibili;
- espressione di PD-L1 per i tumori triplo negativi.(114,115)

Va segnalato che il test per valutare PD-L1 è piuttosto complesso: la colorazione può essere effettuata esclusivamente con l'anticorpo 22C3 pharmDx (Dako) e viene valutata usando il Combined Positive Score (CPS).(116) Inoltre, il test Oncotype Dx è di introduzione

relativamente recente e le categorie di pazienti per le quali viene raccomandato sono variate negli anni.(75,76)

Valutazione genetica

Le linee guida AIOM raccomandano il test genetico per mutazioni germinali BRCA1/2 su sangue periferico in caso di forte sospetto per tumore eredo-familiare. Il forte sospetto viene definito in base a tre possibili gruppi di criteri(73):

- criteri basati su caratteristiche cliniche individuali, ad esempio diagnosi in giovane età, neoplasie metacrone dell'ovaio, tumore bilaterale
- criteri basati sulle caratteristiche istopatologiche, ad esempio un tumore luminale metastatico con progressione di malattia nonostante l'uso di terapie di nuova generazione;
- criteri basati sulla storia familiare, ad esempio una familiarità di primo grado per un tumore del seno o dell'ovaio.

1.1.7 SCREENING MAMMOGRAFICO E DIAGNOSI PRECOCE

Razionale e organizzazione

Come afferma il World Cancer Report, lo screening oncologico è una strategia per la riduzione della mortalità tumore-specifica mediante un aumento delle diagnosi in pazienti asintomatici. Il razionale dello screening è identificare il maggior numero possibile di lesioni in stadio precoce, ovvero di lesioni con aspetto radiologico minimo e che non si associano a un quadro clinico, per permettere la terapia adeguata prima della diffusione regionale o a distanza.(117) Uno studio su quasi 9 milioni di pazienti oncologici statunitensi registrati tra il 1975 e il 2018 nel registro SEER, con tumori in 46 diverse sedi, ha mostrato che la probabilità di guarigione varia enormemente in base allo stadio alla diagnosi.(118) Un altro studio sul registro SEER, comprendente 2,4 milioni di pazienti oncologici diagnosticati tra il 2006 e il 2015, con tumori in 21 diverse sedi, ha stimato che la frazione di guarigione per quasi tutte le neoplasie è elevata agli stadi I-II, mentre crolla drasticamente allo stadio IV. Ad esempio, per il carcinoma mammario luminale si passava dall'87% in stadio I al 5% in stadio IV.(119) Tutto questo conferma che la diagnosi precoce rappresenta la leva più efficace per ridurre la mortalità oncologica a livello di popolazione.

Il gold standard per lo screening del tumore della mammella è la mammografia, poiché essa permette la coesistenza di rapida esecuzione, costi sanitari contenuti, bassa esposizione dosimetrica e alta sensibilità per lesioni precliniche.(120) Le linee guida NCCN e ESMO raccomandano lo screening mammografico annuale o biennale per le donne di età compresa tra 40 e 74 anni, con particolare enfasi sulla fascia di età 50-69 anni che è considerata il gruppo ottimale per questa misura di prevenzione.(72,81)

Una revisione sistematica delle linee guida globali per lo screening del tumore della mammella ha identificato 23 linee guida pubblicate tra il 2010 e il 2021 in 11 Paesi o Regioni. La maggioranza di queste linee guida era stata emessa da Paesi ad alto reddito e conteneva raccomandazioni sostanzialmente simili riguardo a età, metodi e intervalli di screening. La mammografia era raccomandata come modalità primaria di screening da tutte le linee guida. Esisteva un consenso nella maggior parte delle linee guida, per cui alle donne ad alto rischio dovrebbe essere offerta una mammografia o un RM annuale e lo screening dovrebbe iniziare in età più giovane.(121)

Le linee guida europee raccomandano la doppia lettura delle mammografie di screening per garantire una maggiore sensibilità.(122) La doppia lettura ha dimostrato una riduzione del tasso di richiamo e un aumento del detection rate, sebbene determini un carico di lavoro elevato per i sistemi sanitari.(123)

Vantaggi dello screening

Un'analisi osservazionale condotta su 194 Paesi nel 2021 ha dimostrato che i Paesi con programmi regolari di screening per tumore della mammella presentavano 3,74 decessi ogni 100.000 abitanti in meno rispetto ai Paesi con programmi irregolari.(124)

Uno studio che ha analizzato i dati del Global Burden of Disease ha dimostrato che i programmi di screening organizzati diminuiscono significativamente anche gli anni di vita aggiustati per disabilità (disability-adjusted life years, DALYs).(125) Infatti, la diagnosi precoce riduce la morbidità del trattamento, poiché i tumori rilevati dallo screening sono tipicamente a uno stadio inferiore rispetto ai tumori rilevati dalla palpazione, offrendo la possibilità di un trattamento chirurgico più conservativo. Freedman et al. confermano che la chirurgia conservativa era un'opzione per il 61% delle pazienti individuate tramite screening rispetto al 41% delle pazienti individuate non tramite screening, mentre la mastectomia era raccomandata nel 28% dei casi contro il 41%.(126) Infine, Barth et al. hanno dimostrato che le pazienti con carcinoma rilevato allo screening erano più frequentemente trattate con chirurgia conservativa (56% vs 32%) e meno frequentemente con chemioterapia (28% vs 56%).(127)

Epidemiologia dello screening mammografico nel mondo

Negli Stati Uniti l'assenza di un programma di screening organizzato comporta la mancanza di registri centrali per l'invito e il richiamo delle pazienti, con conseguente riduzione dell'aderenza alle raccomandazioni. Esiste inoltre una variabilità eccessiva nella sensibilità e specificità della mammografia, che potrebbe essere migliorata con standard di qualificazione più rigorosi e educazione continua. Le barriere di accesso all'imaging mammario continuano a persistere tra le donne a basso reddito, non assicurate o residenti in contesti rurali.(128)

A seguito della Raccomandazione del Consiglio dell'Unione Europea del 2 dicembre 2003, che suggeriva l'implementazione di programmi organizzati di screening mammografico con cadenza biennale per le donne di età compresa tra 50 e 69 anni, la quasi totalità dei Paesi europei ha progressivamente adottato programmi nazionali di screening.(129) Al 2022, ad

eccezione di Bulgaria, Grecia e Romania, tutti i Paesi europei avevano introdotto un programma di screening mammografico organizzato. L'aderenza a tali programmi di screening presenta comunque importanti variabilità intra-regionali: la percentuale di donne che, intervistate, riferiscono di essersi sottoposte a mammografia, è correlata all'indice di sviluppo umano del Paese di residenza.(130) Una revisione sistematica degli studi europei ha dimostrato che lo screening organizzato, paragonando partecipanti con non partecipanti, riduce la mortalità in tutte le regioni europee in cui è stato implementato e monitorato.(131)

Il Giappone è stato il pioniere dello screening mammario in Asia. La mammografia è stata introdotta nel 2000 per le donne ≥ 50 anni e nel 2004 è stata stesa alla fascia 40-49 anni, con cadenza biennale.(132) Il Giappone presenta tassi di adesione inferiori alla media OCSE: nel 2013 la partecipazione era del 34,2% nelle donne di 40-69 anni.(133) Il sistema complesso di erogazione (screening municipale, aziendale e opportunistico) e la mancanza di un registro nazionale unificato rappresentano barriere significative.(134) Inoltre, il 60-70% delle donne giapponesi presenta tessuto mammario denso, fattore che riduce la sensibilità mammografica.(135)

La Breast Health Global Initiative (BHGI) afferma che i programmi di screening mammografico di popolazione sono troppo costosi per i Paesi a basso reddito, oltre che non essere non cost-effective rispetto ad altre priorità sanitarie. Anche quando i fondi sono disponibili, mancano tecnici e radiologi qualificati.(136) L'OMS afferma che, nei contesti a risorse limitate con sistemi sanitari deboli, dove la maggior parte delle donne con tumore della mammella viene diagnosticata in stadio avanzato e lo screening mammografico non è costo-efficace né fattibile, l'esame clinico del seno rappresenta un metodo di screening a basso costo che appare promettente.(137) Una revisione Cochrane conferma che l'esame clinico, eseguito da operatori sanitari formati, può contribuire al downstaging della malattia, pur senza evidenza diretta di riduzione della mortalità.(138)

Screening mammografico e sorveglianza pazienti BRCA-positive in Italia e in Emilia-Romagna

In Italia lo screening mammografico è uno dei tre screening nazionali rimborsati dal Servizio Sanitario Nazionale. I criteri di accesso sono definiti dalle linee guida dell'Associazione Italiana di Oncologia Medica (AIOM). Il protocollo standard prevede l'esecuzione di una mammografia ogni 2 anni per tutte le donne nella fascia di età 50-69 anni.(73) La partecipazione allo screening organizzato è significativamente inferiore nelle regioni meridionali, con trend decrescente dal Nord verso il Sud.(139)

Alcune regioni italiane adottano criteri più estesi servendosi dei propri fondi sanitari regionali. In particolare, il PDTA dell'Emilia Romagna per il tumore della mammella estende l'invito allo screening mammografico anche alla fascia 45-49 anni, con cadenza annuale, e alla fascia 70-74 anni, con cadenza biennale.(74)

Il protocollo delinea anche il percorso di sorveglianza senologica per le pazienti BRCA-positive. Fino a 25 anni è indicata una visita senologica associata a ecografia mammaria, con cadenza

semestrale. Nella fascia 25-34 anni questa viene integrata dalla RM mammaria bilaterale con mezzo di contrasto, con cadenza annuale. A partire da 35 anni le pazienti entrano in un percorso di screening mammografico annuale che prosegue fino a 69 anni.(74)

1.1.8 STADIAZIONE

Stadiazione TNM secondo l'8ª edizione del sistema AJCC-UICC

La stadiazione del tumore della mammella si basa sull'8ª edizione del manuale dell'American Joint Commission on Cancer (AJCC) e sull'8ª edizione del manuale dell'Union for International Cancer Control (UICC), entrambi pubblicati nel 2017.(140,141) Essi classificano l'estensione anatomica della malattia attraverso tre componenti: T (dimensione e estensione del tumore primario), N (coinvolgimento dei linfonodi regionali), e M (presenza di metastasi a distanza). Le categorie TNM vengono combinate per determinare lo stadio anatomico (0, I, II, III, IV) (Tabelle 1 e 2).

Il sistema distingue tra una stadiazione clinica (cTNM) e una stadiazione patologica (pTNM). Quella clinica viene stabilita prima dell'inizio del trattamento e si basa su esame obiettivo, imaging diagnostico, endoscopia, biopsie diagnostiche ed esami di laboratorio. Quella patologica viene determinata dopo l'intervento chirurgico e si basa sull'esame istologico del pezzo chirurgico resecato. La classificazione dei linfonodi ascellari differisce significativamente tra stadiazione clinica (cN) e stadiazione patologica (pN), perché l'imaging spesso sottostima il coinvolgimento linfonodale e non lo definisce in modo specifico. La stadiazione pN richiede l'asportazione e l'esame istologico di un numero adeguato di linfonodi, quindi di fatto è possibile solo quando viene eseguita la dissezione ascellare.

L'8ª edizione della stadiazione AJCC ha introdotto per la prima volta anche una stadiazione prognostica, che integra la stadiazione anatomica TNM tradizionale con i parametri biologici quali grado istologico, classificazione molecolare e risultato di OncotypeDx. Il panel AJCC ha concluso che "the clinical utility of biologic factors such as grade, hormone receptor expression, HER2 overexpression and/or amplification, and genomic panels has become at least as important as the anatomic extent of disease to predict survival".(50) Sebbene questa nuova stadiazione rappresenti un'innovazione concettuale rilevante, l'assenza di un suo recepimento formale anche da parte dell'UICC ha fatto sì che essa non sia entrata nella pratica clinica europea. Inoltre, il rimborso del costo dei test genomici rimane una barriera di accesso importante.(142,143)

Indicazioni per l'imaging di completamento alla stadiazione clinica preoperatoria

Le linee guida ESMO e AIOM indicano che l'ecografia ascellare fa parte del work-up diagnostico del tumore. Essa deve essere eseguita in associazione all'esame obiettivo e alla mammografia bilaterale per definire lo stadio clinico di partenza. Questa indagine è considerata mandatoria per la corretta valutazione dello stato dei linfonodi regionali. Qualora l'esame obiettivo, la mammografia o l'ecografia suggeriscano un interessamento dei linfonodi ascellari, è

necessaria l'esecuzione di un'agobiopsia o un agoaspirato prima di procedere con interventi chirurgici o terapie sistemiche.

Invece, la stadiazione sistemica preoperatoria mediante TC total-body e PET-TC (o in alternativa anche mediante scintigrafia ossea) è indicata solo in caso di stadio IIB–III, sintomi o reperti di laboratorio suggestivi di metastasi a distanza, sottotipo tumorale aggressivo candidato a terapia sistemica neoadiuvante. La RM encefalo può essere considerata in presenza di sintomi neurologici.(72,73)

Tabella 1. Definizioni di T, N, M secondo il sistema AJCC.(140)

Tumore primario (T)	
T0	No evidence of primary tumor
Tis (DCIS)	Ductal carcinoma <i>in situ</i>
Tis (Paget)	Paget disease of the nipple NOT associated with invasive carcinoma and/or carcinoma <i>in situ</i> (DCIS) in the underlying breast parenchyma. Carcinomas in the breast parenchyma associated with Paget disease are categorized based on the size and characteristics of the parenchymal disease, although the presence of Paget disease should still be noted
T1	Tumor ≤20 mm in greatest dimension
T1mi	Tumor ≤1 mm in greatest dimension
T1a	Tumor >1 mm but ≤5 mm in greatest dimension (round any measurement >1.0–1.9 mm to 2 mm)
T1b	Tumor >5 mm but ≤10 mm in greatest dimension
T1c	Tumor >10 mm but ≤20 mm in greatest dimension
T2	Tumor >20 mm but ≤50 mm in greatest dimension
T3	Tumor >50 mm in greatest dimension
T4	Tumor of any size with direct extension to the chest wall and/or to the skin (ulceration or macroscopic nodules); invasion of the dermis alone does not qualify as T4
T4a	Extension to the chest wall; invasion or adherence to pectoralis muscle in the absence of invasion of chest wall structures does not qualify as T4
T4b	Ulceration and/or ipsilateral macroscopic satellite nodules and/or edema (including peau d'orange) of the skin that does not meet the criteria for inflammatory carcinoma
T4c	Both T4a and T4b are present
T4d	Inflammatory carcinoma
Linfonodi regionali - Clinica (cN)	
cNX	Regional lymph nodes cannot be assessed; is used sparingly in cases where regional lymph nodes have previously been surgically removed or where there is no documentation of physical examination of the axilla.
cN0	No regional lymph node metastases (by imaging or clinical examination)
cN1	Metastases to movable ipsilateral level I, II axillary lymph node(s)
cN1mi	Micrometastases (approximately 200 cells, larger than 0.2 mm, but none larger than 2.0 mm); is rarely used but may be appropriate in cases where sentinel node biopsy is performed before tumor resection, most likely to occur in cases treated with neoadjuvant therapy.
cN2	Metastases in ipsilateral level I, II axillary lymph nodes that are clinically fixed or matted; <i>or</i> in ipsilateral internal mammary nodes in the absence of axillary lymph node metastases
cN2a	Metastases in ipsilateral level I, II axillary lymph nodes fixed to one another (matted) or to other structures
cN2b	Metastases only in ipsilateral internal mammary nodes in the absence of axillary lymph node metastases
cN3	Metastases in ipsilateral infraclavicular (level III axillary) lymph node(s) with or without level I, II axillary lymph node involvement; <i>or</i> in ipsilateral internal mammary lymph node(s) with level I, II axillary lymph node metastases; <i>or</i> metastases in ipsilateral

	supraclavicular lymph node(s) with or without axillary or internal mammary lymph node involvement
cN3a	Metastases in ipsilateral infraclavicular lymph node(s)
cN3b	Metastases in ipsilateral internal mammary lymph node(s) and axillary lymph node(s)
cN3c	Metastases in ipsilateral supraclavicular lymph node(s)
Note: (sn) and (f) suffixes should be added to the N category to denote confirmation of metastasis by sentinel node biopsy or fine needle aspiration/core needle biopsy respectively.	
Linfonodi regionali - Patologica (pN)	
pNX	Regional lymph nodes cannot be assessed (e.g., not removed for pathological study or previously removed)
pN0	No regional lymph node metastasis identified or ITCs only
pN0(i+)	ITCs only (malignant cells clusters no larger than 0.2 mm) in regional lymph node(s)
pN0(mol+)	Positive molecular findings by reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR); no ITCs detected
pN1	Micrometastases; or metastases in 1–3 axillary lymph nodes; and/or in clinically negative internal mammary nodes with micrometastases or macrometastases by sentinel lymph node biopsy
pN1mi	Micrometastases (approximately 200 cells, larger than 0.2 mm, but none larger than 2.0 mm)
pN1a	Metastases in 1–3 axillary lymph nodes, at least one metastasis larger than 2.0 mm
pN1b	Metastases in ipsilateral internal mammary sentinel nodes, excluding ITCs
pN1c	pN1a and pN1b combined.
pN2	Metastases in 4–9 axillary lymph nodes; or positive ipsilateral internal mammary lymph nodes by imaging in the absence of axillary lymph node metastases
pN2a	Metastases in 4–9 axillary lymph nodes (at least one tumor deposit larger than 2.0 mm)
pN2b	Metastases in clinically detected internal mammary lymph nodes with or without microscopic confirmation; with pathologically negative axillary nodes
pN3	Metastases in 10 or more axillary lymph nodes; <i>or</i> in infraclavicular (level III axillary) lymph nodes; <i>or</i> positive ipsilateral internal mammary lymph nodes by imaging in the presence of one or more positive level I, II axillary lymph nodes; <i>or</i> in more than three axillary lymph nodes and micrometastases or macrometastases by sentinel lymph node biopsy in clinically negative ipsilateral internal mammary lymph nodes; <i>or</i> in ipsilateral supraclavicular lymph nodes
pN3a	Metastases in 10 or more axillary lymph nodes (at least one tumor deposit larger than 2.0 mm); <i>or</i> metastases to the infraclavicular (level III axillary) nodes
pN3b	pN1a or pN2a in the presence of cN2b (positive internal mammary nodes by imaging); <i>or</i> pN2a in the presence of pN1b
pN3c	Metastases in ipsilateral supraclavicular lymph nodes
Note: (sn) and (f) suffixes should be added to the N category to denote confirmation of metastasis by sentinel node biopsy or FNA/core needle biopsy respectively, with NO further resection of nodes	
Metastasi a distanza (M)	
M0	No clinical or radiographic evidence of distant metastases*
cM0(i+)	No clinical or radiographic evidence of distant metastases in the presence of tumor cells or deposits no larger than 0.2 mm detected microscopically or by molecular techniques in circulating blood, bone marrow, or other nonregional nodal tissue in a patient without symptoms or signs of metastases
cM1	Distant metastases detected by clinical and radiographic means
pM1	Any histologically proven metastases in distant organs; or if in non-regional nodes, metastases greater than 0.2 mm

Tabella 2. Gruppi di stadio anatomico AJCC.(140)

Stadio	Tumore primario	Linfonodi regionali	Metastasi distanza	a
Stage 0	Tis	N0	M0	
Stage IA	T1	N0	M0	
Stage IB	T0	N1mi	M0	
	T1	N1mi	M0	
Stage IIA	T0	N1	M0	
	T1	N1	M0	
	T2	N0	M0	
Stage IIB	T2	N1	M0	
	T3	N0	M0	
Stage IIIA	T0	N2	M0	
	T1	N2	M0	
	T2	N2	M0	
	T3	N1	M0	
	T3	N2	M0	
Stage IIIB	T4	N0	M0	
	T4	N1	M0	
	T4	N2	M0	
Stage IIIC	Any T	N3	M0	
Stage IV	Any T	Any N	M1	

Notes:

1. T1 includes T1mi.
2. T0 and T1 tumors with nodal micrometastases (N1mi) are staged as Stage IB.
3. T2, T3, and T4 tumors with nodal micrometastases (N1mi) are staged using the N1 category.
4. M0 includes M0(i+).
5. The designation pM0 is not valid; any M0 is clinical.
6. If a patient presents with M1 disease prior to neoadjuvant systemic therapy, the stage is considered Stage IV and remains Stage IV regardless of response to neoadjuvant therapy.
7. Stage designation may be changed if postsurgical imaging studies reveal the presence of distant metastases, provided the studies are performed within 4 months of diagnosis in the absence of disease progression, and provided the patient has not received neoadjuvant therapy.
8. Staging following neoadjuvant therapy is designated with "yc" or "yp" prefix to the T and N classification. There is no anatomic stage group assigned if there is a complete pathological response (pCR) to neoadjuvant therapy, for example, ypT0ypN0cM0.

1.1.9 PROGNOSI

Fattori prognostici e fattori predittivi di efficacia terapeutica

La gestione clinica del carcinoma mammario si fonda sulla capacità di stimare l'evoluzione naturale della malattia e di prevedere la risposta ai trattamenti disponibili. A questo scopo, è fondamentale distinguere tra fattori prognostici e fattori predittivi. Un fattore prognostico è una variabile misurabile al momento della diagnosi che correla con la sopravvivenza globale, con la sopravvivenza libera da malattia o con il rischio di recidiva della paziente: guida la decisione se trattare o meno la paziente. Un fattore predittivo, al contrario, è una variabile associata alla probabilità di risposta a una specifica terapia: orienta la scelta del trattamento

più appropriato. Alcuni fattori possiedono una duplice valenza, essendo allo stesso tempo prognostici e predittivi.(144,145)

I principali fattori prognostici o predittivi del tumore della mammella sono:

- Stadiazione TNM secondo il sistema AJCC. La stadiazione anatomica TNM è storicamente riconosciuta come il fattore prognostico più importante nel carcinoma mammario.(146–148) Uno studio olandese del 2015 su 173.797 pazienti ha confermato che lo stadio alla diagnosi influenza ancora significativamente la sopravvivenza globale, nonostante i progressi terapeutici nelle terapie sistemiche moderne registrati tra il 1999 e il 2012: la diagnosi precoce, quindi, mantiene un valore prognostico indipendente.(149) L'American Cancer Society afferma che lo stadio alla diagnosi continua ad essere l'indicatore prognostico più forte.(11)
- Espressione recettoriale. Essa è consolidata da decenni sia come fattore prognostico sia come fattore predittivo.(150,151)

La positività per ER identifica un sottotipo biologicamente favorevole, e al tempo stesso è il criterio per la selezione delle pazienti candidate alla terapia endocrina.(152–154) La positività per PR ha un valore più controverso: le linee guida ASCO/CAP riconoscono che solamente l'ER dovrebbe essere utilizzato come fattore predittivo per la terapia endocrina, mentre il PR mantiene un ruolo prognostico nel stratificare gli esiti della popolazione ER-positiva.(155)

La sovraespressione di HER2 identifica un sottotipo biologicamente aggressivo, e al tempo stesso predice la risposta alla terapia anti-HER2 con trastuzumab, pertuzumab e i rispettivi ADC.(156,157) Prima dello sviluppo degli anticorpi monoclonali diretti contro HER2, il sottotipo HER2-positivo era associato a una prognosi molto sfavorevole. L'introduzione di trastuzumab a inizio anni 2000 ha modificato radicalmente la storia naturale della malattia, con una riduzione del rischio di recidiva e morte di circa un terzo nel primo decennio di follow-up. Attualmente, la positività HER2 non rappresenta più un marcatore di prognosi sfavorevole, con tassi di sopravvivenza globale che si avvicinano a quelli dei sottotipi luminali.(158–160)

L'assenza di tutti e tre i recettori, che identifica il tumore triplo-negativo, è associata con la prognosi peggiore.

- Grado istologico. La classificazione studiata da Elston e Ellis nel 1991 presenta una correlazione molto forte con la prognosi. Lo studio di Rakha et al. del 2008, condotto su 2.219 pazienti con follow-up mediano di 111 mesi, ha ribadito questa correlazione e ha concluso che i tre fattori prognostici più forti sono la dimensione del tumore primario, il coinvolgimento dei linfonodi e il grado istologico.(161,162) L'International Collaboration on Cancer Reporting (ICCR) del 2024 conferma che il grado istologico è un fattore prognostico indipendente e raccomanda la sua valutazione in tutti i carcinomi mammari invasivi.(59)

- Istotipo. L'istotipo del carcinoma mammario ha un valore prognostico che si esprime principalmente nei tipi speciali. I carcinomi tubulare, mucinoso e cribriforme sono associati a una prognosi significativamente più favorevole di quella del carcinoma NST, mentre il carcinoma micropapillare e il carcinoma metaplastico si associano a una prognosi peggiore. Va sottolineato che in ogni caso il valore prognostico indipendente dell'istotipo è limitato: in analisi multivariata, l'effetto prognostico è in gran parte mediato dai marcatori recettoriali e dallo stadio.(163)
- Profilo di espressione genica. Valutato mediante test genomici multigenici, è sia un fattore prognostico sia un fattore predittivo, poiché stima il rischio di recidiva del tumore luminale con proliferazione Ki-67 intermedia e l'eventuale beneficio di associare una chemioterapia all'endocrinoterapia adiuvante. Attualmente Oncotype DX è l'unico test validato da trial prospettici randomizzati sia per il valore prognostico sia per quello predittivo, tramite gli studi WSG-PlanB e TAILORx. Il MammaPrint possiede un valore prognostico validato nello studio prospettico MINDACT, ma non ne è ancora stata validata la capacità predittiva.(164)

L'utilizzo di OncotypeDx ha dimostrato un impatto significativo sulle decisioni terapeutiche nella pratica clinica. Uno studio su 1.738 pazienti provenienti da 27 ospedali italiani ha documentato che il test ha fortemente influenzato la scelta dei medici, portando a una riduzione dell'uso della chemioterapia del 36%; se la scelta fosse stata fatta unicamente in base alle raccomandazioni dello studio TAILORx, la riduzione dell'uso della chemioterapia sarebbe arrivata al 49%.(165)

- Indice di proliferazione Ki-67. L'indice di proliferazione Ki-67 è utilizzato nella classificazione molecolare per distinguere il sottotipo luminale A dal luminale B. La mancanza di standardizzazione nella metodica di valutazione e l'assenza di un cut-off universalmente accettato ne limitano l'utilità clinica (sezione 1.1.4). Esso è un indice sia prognostico sia predittivo: valori elevati si associano a un tasso di sopravvivenza inferiore, ma anche a una maggiore probabilità di risposta patologica completa alla chemioterapia neoadiuvante.(166,167)
- Espressione di PD-L1. Essa è un fattore predittivo di risposta all'immunoterapia con pembrolizumab nel tumore triplo negativo. Secondo le indicazioni del trial KEYNOTE-355, la paziente è candidabile all'immunoterapia in caso di CPS ≥ 10 .(168)
- Varianti patogenetiche di BRCA1/2. Queste varianti germinali rappresentano un fattore predittivo di risposta ai PARP-inibitori secondo i recenti trial EMBRACA e OlympiA.(169,170)
- Varianti patogenetiche di PIK3CA e di ESR1. Le mutazioni somatiche di PIK3CA predicono la risposta ai PI3K-inibitori nel tumore luminale A metastatico.(171) La mutazione acquisita di ESR1 è un marcatore predittivo emergente di resistenza alla

terapia endocrina nei tumori luminali in stadio avanzato e viene usato come indicazione per i SERD (antiestrogenici di nuova generazione).(172)

- Linfociti infiltranti il tumore (TIL). Questo parametro ha acquisito recentemente rilevanza come marcatore prognostico nel tumore triplo negativo. Richiede ancora validazione prospettica come fattore predittivo di risposta alla terapia neoadiuvante.(173,174)

Tassi di sopravvivenza per stadio e per sottotipo molecolare

Secondo le statistiche più recenti dell'American Cancer Society, per il tumore della mammella il tasso di sopravvivenza relativa a 5 anni è complessivamente del 91%, che scende all'86% a 10 anni e all'81% a 15 anni dalla diagnosi.(31)

Lo stadio alla diagnosi rappresenta il più potente indicatore prognostico nel carcinoma mammario. Sempre secondo i dati dell'American Cancer Society, la sopravvivenza relativa a 5 anni è del 99% per la malattia localizzata, dell'87% per lo stadio regionale e del 32% per la malattia a distanza. Dati analoghi emergono da casistiche europee. In uno studio italiano, la sopravvivenza relativa a 5 anni è del 100% per lo stadio I, dell'89,7% per lo stadio II, del 71,4% per lo stadio III e del 29,1% per lo stadio IV.(11,175) Per quanto riguarda la sopravvivenza globale mediana della malattia metastatica, in uno studio su 159.344 pazienti del database SEER essa era di 32 mesi.(176)

Il sottotipo molecolare è l'altro fattore prognostico indipendente a più alta potenza. Uno studio su 321.958 pazienti del database SEER ha dimostrato che il sottotipo luminale A ha il più alto tasso di sopravvivenza globale a 5 anni (88,4%), seguito dal luminale B (88,2%), dall'HER2-positivo (83,9%) e infine dal triplo negativo (76,5%).(177) Anche quando si prendono in considerazione solamente i tumori in stadio I, la prognosi varia significativamente in funzione del sottotipo: la sopravvivenza specifica per carcinoma mammario a 5 anni è di almeno il 99% per i tumori luminali, del 94% per gli HER2-positivi e dell'85% per i triplo negativi.(178) Stesso discorso può essere fatto per la malattia metastatica. Uno studio europeo, condotto su 22.109 pazienti con tumore della mammella metastatico dal 2008 al 2016, ha evidenziato che la sopravvivenza globale mediana è stata di 43,3 mesi per i luminali, di 50,1 mesi per gli HER2-positivi e di 14,8 mesi per il triplo negativi.(179)

Tassi di recidiva e pattern di recidiva per stadio e per sottotipo molecolare

La probabilità di recidiva nel carcinoma mammario varia significativamente in funzione dello stadio alla diagnosi. Uno studio di popolazione italiano su donne diagnosticate tra il 2007 e il 2017 ha documentato un rischio cumulativo di recidiva metastatica a 15 anni del 3,0% per lo stadio I, del 16,0% per lo stadio II e del 42,7% per lo stadio III.(164)

I tassi di recidiva differiscono anche tra i sottotipi molecolari. Dati provenienti dall'International Breast Cancer Study Group su 1.951 pazienti con malattia linfonodo-negativa hanno evidenziato che il breast cancer-free interval a 10 anni è dell'86% per il luminale A, del 76% per il luminale B, del 73% per l'HER2-positivo e del 71% per il triplo negativo.(180)

In uno studio olandese su 8.062 pazienti con follow-up 10 anni, nel sottotipo HER2-positivo si sono verificate più frequentemente le recidive locali (7,5%) e le recidive metastatiche (25,6%), mentre le recidive regionali sono state più comuni nel sottotipo triplo-negativo (5,2%). Il sottotipo luminale A ha mostrato i tassi più bassi sia di recidiva locale (3,7%) sia di recidiva metastatica (9,5%).(181)

Anche il pattern temporale della recidiva varia da un sottotipo all'altro. I tumori triplo negativi e HER2-positivi presentano il rischio più elevato di recidiva nei primi 2-5 anni dalla diagnosi.(182) I luminali B sono caratterizzati da un rischio di recidiva elevato nei primi 5 anni dalla diagnosi. Per i luminali A il rischio di recidiva precoce è basso, ma poi persiste per almeno 25 anni. Dopo i primi 10 anni dalla diagnosi, il rischio annuale di recidiva a distanza dei due sottotipi tende a convergere: il rischio del luminale B, più alto, si riduce progressivamente, mentre quello del luminale A rimane stabile.(183,184)

Tendenze temporali nei tassi e prospettive future

Il Cancer Intervention and Surveillance Modeling Network è una rete di modelli di simulazione computerizzata della popolazione, sviluppata e finanziata dal National Cancer Institute americano. Un'analisi basata sui modelli CISNET ha attribuito al contributo dei diversi interventi terapeutici negli Stati Uniti una riduzione del 58% della mortalità per tumore della mammella tra il 1975 e il 2019: di questa riduzione complessiva, il 47% è stato attribuito al miglioramento del trattamento degli stadi precoci I-III, il 29% al miglioramento del trattamento della malattia metastatica e il 25% allo screening mammografico con l'aumento delle diagnosi precoci.(185)

Uno studio olandese su 320.249 pazienti ha documentato che la sopravvivenza relativa a 5 e 10 anni è aumentata dal 76,8% e 55,9%, nel periodo 1989-1999, rispettivamente al 91,0% e al 82,9% nel periodo 2010-2016.(186) Anche la sopravvivenza della malattia metastatica nello specifico è migliorata significativamente nel tempo. Una meta-analisi condotta su 35.831 pazienti con tumore metastatico de novo ha stimato che la sopravvivenza globale mediana è passata da 20 mesi per le pazienti diagnosticate nel 1990, a 31 mesi per quelle diagnosticate nel 2010. La stessa analisi su 18.678 pazienti con recidiva metastatica ha stimato che la sopravvivenza globale mediana è passata da 21 mesi per le pazienti diagnosticate nel 1990, a 38 mesi per quelle diagnosticate nel 2010.(187) Uno studio dell'Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG) ha documentato una riduzione di un quinto dei tassi di recidiva a distanza a 10 anni tra la coorte 1990–1999 e quella 2000–2009.(188)

Va sottolineato che queste stime precedono l'introduzione nella pratica clinica di diversi farmaci innovativi come trastuzumab deruxtecan, sacituzumab govitecan, inibitori CDK4/6, pembrolizumab. Pertanto, l'impatto sulla sopravvivenza a lungo termine di questi farmaci innovativi non è ancora pienamente catturato dalle attuali statistiche di popolazione.(189)

1.1.10 CORRELAZIONE TRA STADIAZIONE, PROGNOSI E CURABILITÀ

Tumore in fase precoce e tumore metastatico a confronto

Il tumore della mammella è una neoplasia eterogenea, le cui opzioni terapeutiche variano in funzione della prognosi al momento della diagnosi. Il fattore prognostico più importante è la stadiazione anatomica TNM, che distingue tra malattia localizzata, malattia localmente avanzata e malattia metastatica (sezioni 1.1.8 e 1.9.9). Le linee guida NCCN, ESMO e AIOM definiscono il tumore della mammella in fase precoce, o Early Breast Cancer (EBC), in modo molto ampio. Il termine include sia la malattia localizzata sia la malattia localmente avanzata, comprendendo di fatto quasi tutti gli stadi non metastatici.(71–73) I dati epidemiologici sulla differenza di sopravvivenza tra tumori localizzati e i tumori metastatici (sezioni 1.1.7, 1.1.9) indicano che gli stadi M0 sono accomunati dalla possibilità di perseguire un trattamento con intento curativo, mentre la malattia metastatica in stadio IV è generalmente associata a una prognosi peggiore e quindi a un trattamento palliativo.(151)

La letalità della malattia metastatica non dipende semplicemente dalla disseminazione delle cellule tumorali, ma dall'acquisizione progressiva di modificazioni biologiche. Come sottolineato da Brücher et Jamall (2025), solo lo 0,2% delle cellule tumorali circolanti riesce effettivamente a dare origine a metastasi clinicamente rilevanti. Esse riescono a generarsi perché attorno alla cellula tumorale circolante si forma progressivamente un microambiente pre-metastatico (“premetastatic niche”), che coinvolge molti tipi cellulari: piastrine, neutrofili, macrofagi, fibroblasti. Questi tipi cellulari scortano e proteggono il tumore dal sistema immunitario, guidandolo verso i siti di metastasi. Quindi, queste cellule non sono semplici copie del tumore primitivo spostate in un altro organo: le modificazioni che si accumulano determinano differenze sostanziali rispetto al tumore primitivo. Per questo motivo le strategie terapeutiche efficaci contro il tumore primario sono spesso inadeguate per il trattamento delle lesioni secondarie.(190)

Le linee guida ESMO e AIOM distinguono esplicitamente l'EBC dal tumore della mammella in fase avanzata, o Advanced Breast Cancer (ABC), che comprende la malattia localmente avanzata inoperabile e la malattia metastatica. Il trattamento dell'ABC viene inquadrato in linee guida distinte, sottolineando la differente gestione terapeutica tra le due categorie (sezione 1.2.9).(191,192)

Approccio multimodale del trattamento curativo

Il trattamento curativo è rappresentato dalla resezione chirurgica. L'obiettivo della chirurgia è l'asportazione completa della neoplasia con margini liberi da malattia (resezione R0), eliminando fisicamente la massa tumorale. Spesso la chirurgia viene associata con la radioterapia, per permettere un trattamento meno invasivo e ridurre il rischio di recidiva locoregionale. Tuttavia, queste terapie da sole non sono sufficienti a garantire la guarigione nella maggior parte dei casi, poiché la disseminazione micrometastatica può essere già avvenuta al momento della diagnosi. Questo concetto costituisce il razionale per le terapie sistemiche adiuvanti.(151,193)

1.2 PERCORSO TERAPEUTICO DEL TUMORE DELLA MAMMELLA DIAGNOSTICATO IN FASE PRECOCE

1.2.1 VALUTAZIONE INIZIALE DEL RISCHIO DEL MULTIDISCIPLINARY TEAM (MDT)

Razionale e impatto clinico del Multidisciplinary Team

La complessità biologica e terapeutica del carcinoma mammario rende necessaria la presenza di un team con competenze specialistiche differenti. Secondo le linee guida NCCN e ESMO, il meeting del Multidisciplinary Team (MDT) è necessario affinché i diversi specialisti si riuniscano periodicamente per discutere i singoli casi di tumore della mammella e per definire il piano terapeutico in modo collegiale.(71,72)

Già nelle prime linee guida del 2000 dell'European Society of Breast Cancer Specialists (EUSOMA), contenenti i requisiti minimi per poter identificare un Breast Cancer Center, fu identificata fra le condizioni necessarie anche la presenza di un team multidisciplinare.(194) Un'indagine condotta nel 2012 tra 152 centri in 39 Paesi, ha evidenziato che il 63-65% dei centri europei dichiarava l'MDT come parte obbligatoria del percorso di cura, con riunioni settimanali nel 90% dei casi. Al contrario, la diffusione del modello era significativamente più bassa in Asia e America Latina.(195)

Uno studio retrospettivo ha confrontato pazienti trattate nel 1990-2000 negli ospedali della Greater Glasgow area, che avevano adottato il modello MDT, con pazienti trattate in altri ospedali della Scozia occidentale, che non avevano adottato il modello. Esso ha mostrato che il modello MDT ha determinato una riduzione della mortalità cancro-specifica del 18%. Lo stesso studio ha documentato una riduzione della variabilità inter-ospedaliera della sopravvivenza.(196)

Requisiti minimi e volume chirurgico come determinante di qualità

Le linee guida EUSOMA, sottoscritte anche da ESMO e dall'European Cancer Organisation (ECCO), hanno aggiornato nel 2020 i requisiti per la definizione di Breast Centre specialistico. Sul piano strutturale, il documento definisce la composizione del team multidisciplinare "core": chirurgo senologo, oncologo, radioterapista, radiologo, anatomo-patologo, infermiere di senologia, data manager e psicologo/psichiatra. Esso viene distinto dal team multidisciplinare "esteso", che comprende figure ulteriori attivabili in base alle esigenze specifiche della paziente come il genetista, il fisioterapista, il chirurgo plastico, il palliativista.

Un elemento innovativo della versione del 2020 è l'introduzione del monitoraggio sistematico degli indicatori di qualità EUSOMA. Il Breast Centre deve dimostrare il raggiungimento degli standard minimi per ciascun indicatore e in caso di non conformità attivare azioni correttive documentate, con rivalutazione a data prestabilita. Rispetto alla versione precedente viene introdotta anche la soglia aggiuntiva di almeno 50 casi di malattia metastatica trattati annualmente, al fine di garantire competenza continua anche nella gestione della malattia avanzata e del trattamento palliativo. (197)

Infine, le linee EUSOMA confermano la necessità di almeno 150 casi di tumore della mammella trattati chirurgicamente ogni anno. Un'analisi su 81.416 pazienti, trattate da 682 chirurghi in 82 centri del sistema di britannico, ha dimostrato che i chirurghi ad alto volume (>50 casi/anno) e le unità ad alto volume eseguivano più frequentemente chirurgia conservativa e biopsia del linfonodo sentinella rispetto ai colleghi a basso volume.(198) Un altro studio su 34.458 donne australiane ha confermato che le unità a basso volume sono associate a maggiori tassi di reintervento entro 90 giorni dalla chirurgia conservativa, con conseguente aumento dei rischi procedurali e peggioramento dell'esperienza della paziente.(199)

Centro di Senologia: il modello italiano

Il modello organizzativo italiano in cui si concretizza il team multidisciplinare è il Centro di Senologia, chiamato anche Breast Unit. Esso è una struttura dedicata non solo al trattamento, ma anche allo screening e alla diagnosi. L'accordo Stato-Regioni ha sancito formalmente l'istituzione dei Centri di Senologia nel Servizio Sanitario Nazionale nel dicembre 2014.(200) Le linee guida AIOM sottolineano che i Centri di Senologia sono il contesto elettivo per la presa in carico delle pazienti.(73)

In Italia, la rete delle Breast Unit è monitorata da Senonetwork, associazione fondata nel 2012 con l'obiettivo di garantire che le pazienti accedano a strutture con indicatori di qualità conformi agli standard europei su tutto il territorio nazionale.(201) Come documentato da Magnoni et al. in una narrative review del 2024, basata sui dati di Senonetwork e dell'Agenzia Nazionale per i Servizi sanitari regionali (AGeNaS), le pazienti gestite in centri con approccio multidisciplinare certificato da EUSOMA presentano sopravvivenza e qualità della vita significativamente superiori rispetto a quelle trattate in strutture non specializzate.(202)

Valutazione iniziale del rischio

Il compito principale del team multidisciplinare è la valutazione iniziale del rischio, in cui si integrano le caratteristiche patologiche del tumore e quelle cliniche della paziente, per definire il suo profilo di rischio individuale e orientare la sequenza terapeutica. I principali parametri raccolti nella valutazione iniziale includono stadio clinico TNM, grado istologico, espressione recettoriale e gli altri fattori già citati (sezione 1.1.9). La valutazione iniziale orienta direttamente la prima decisione del percorso terapeutico, ovvero la scelta tra chirurgia upfront e terapia sistemica neoadiuvante.(71–73)

1.2.2 TERAPIA SISTEMICA NEOADIUVANTE

Razionale: downstaging e terapia adattativa basata sulla risposta

La terapia neoadiuvante si è progressivamente affermata per ampie porzioni di carcinoma mammario.(151)

In primo luogo, la terapia preoperatoria consente il downstaging del tumore primitivo, favorendo la conversione da mastectomia a chirurgia conservativa. Consente il downstaging

anche dei linfonodi ascellari, ovvero la conversione da dissezione ascellare completa alla biopsia del linfonodo sentinella. Questo meccanismo è stato documentato per la prima volta nel 1998 dallo studio randomizzato NSABP B-18, il quale ha dimostrato che la chemioterapia neoadiuvante non causava riduzione della sopravvivenza rispetto alla chemioterapia in setting adiuvante, aumentando tuttavia l'utilizzo della chirurgia conservativa.(203)

In secondo luogo, la somministrazione della terapia sistemica prima della resezione permette di ottenere informazioni in vivo sulla sensibilità del tumore. L'entità della risposta tumorale al trattamento neoadiuvante è un fattore prognostico ma anche predittivo, che orienta la terapia sistemica adiuvante (sezione 1.2.6). Il modello della terapia adattativa basata sulla risposta tumorale è uno dei progressi più rilevanti degli ultimi decenni.(204)

Biomarcatori di risposta tumorale: Risposta Patologica Completa (pCR) e Residual Cancer Burden (RCB)

La risposta tumorale al regime neoadiuvante viene valutata dopo la resezione, sul pezzo chirurgico, e si esprime in termini di Risposta Patologica Completa (pCR). A differenza dei fattori prognostici classici valutati alla diagnosi, in base ai quali si decide se trattare il tumore con intento curativo o meno, la pCR è un fattore prognostico dinamico che modifica l'algoritmo terapeutico a metà percorso. Lo studio di Cortazar et al. ha effettuato un'analisi all'interno del Collaborative Trials in Neoadjuvant Breast Cancer (CTNeoBC), un consorzio internazionale istituito dalla FDA che ha aggregato i dati individuali di pazienti provenienti da 12 trial randomizzati di chemioterapia neoadiuvante. Esso ha stabilito in modo definitivo che le pazienti che raggiungono la pCR hanno una sopravvivenza globale significativamente migliore. La pCR correla particolarmente con la prognosi dei tumori HER2-positivo e triplo-negativo, mentre nei tumori luminali ha un valore limitato.(205) Le linee guida NCCN e ESMO citano esplicitamente lo studio di Cortazar et al. a supporto del valore della pCR, che oggi è usata come fattore predittivo per la terapia adiuvante.(71,72)

Tuttavia, lo studio non è riuscito a validare la pCR come fattore prognostico a livello di popolazione: incrementi nei tassi di pCR tra i due bracci di un trial non predicono in modo affidabile miglioramenti della sopravvivenza. Meta-analisi successive con campioni più ampi hanno confermato questa debolezza. Ciò suggerisce che la validità della pCR è limitata da un fatto biologico sottostante: essa misura l'effetto del trattamento sul tumore primario, non necessariamente l'effetto sulla malattia micrometastatica.(206)

Il Residual Cancer Burden (RCB) è l'avanzamento concettuale che cerca di superare i limiti della pCR: trasforma una misura dicotomica "true/false" in una misura continua che cattura l'intero spettro della malattia residua. Esso valuta 4 diversi parametri morfologici su pT e pN dopo il trattamento neoadiuvante; dopodiché, li integra in uno score che definisce 4 diverse classi. Le classi corrispondono a RCB-0 (equivalente alla pCR), RCB-I, RCB-II, RCB-III. L'analisi retrospettiva di Yau et al. ha dimostrato che ogni incremento dello score RCB è associato a un aumento del rischio di recidiva. Pazienti con RCB-I e RCB-III, entrambe classificate come "malattia residua" dalla pCR binaria, hanno prognosi radicalmente diverse. Tuttavia, nessun

trial prospettico randomizzato ha ancora validato lo score RCB come strumento decisionale per la selezione della terapia adiuvante.(207,208)

Indicazioni e schemi terapeutici

Secondo le linee guida ESMO e AIOM, la terapia neoadiuvante è indicata in base alla stadiazione clinica e al sottotipo biologico.(72,73) Lo stadio III non operabile costituisce l'indicazione storica. In questa categoria rientrano i carcinomi T3-T4, ovvero i tumori particolarmente ampi infiltranti la cute o la parete toracica. Anche la presenza di linfonodi ascellari clinicamente positivi (cN+) costituisce un'indicazione. Inoltre, la terapia neoadiuvante è sempre raccomandata in caso di tumore HER2-positivo con T $\geq$ 2 (eventualmente anche T1c), e in caso di tumore triplo negativo con T $\geq$ 2 o con T1c cN1-2.

Nei tumori HER2-positivi oggi il regime standard prevede un trattamento con pertuzumab-trastuzumab associato a chemioterapia con taxano, più antraciclina o più carboplatino. Il trial NeoSphere ha dimostrato che l'aggiunta di pertuzumab determinava un aumento della pCR.(209) Parallelamente, il trial TRYPHAENA ha valutato la sicurezza cardiaca dell'associazione pertuzumab-trastuzumab con antracicline e carboplatino.(210)

Nei tumori triplo negativi oggi il regime standard prevede un trattamento con pembrolizumab associato a chemioterapia; il trattamento chemioterapico comprende 4 cicli di antraciclina e ciclofosfamide, seguiti da 4 cicli di taxano con eventualmente carboplatino. Il trial KEYNOTE-522 ha dimostrato che l'aggiunta di pembrolizumab migliora sia il tasso di pCR sia la sopravvivenza.(211)

Viceversa, i tumori luminali sono generalmente candidati alla chirurgia upfront; la terapia neoadiuvante può essere presa in considerazione solo in casi selezionati e in contesti di ricerca (G3, alto Ki-67, pazienti anziane non candidabili a chirurgia o a chemioterapia). Quando viene somministrata, prevede un inibitore dell'aromatasi per 4–6 mesi.

1.2.3 CHIRURGIA DELLA MAMMELLA

Chirurgia conservativa

La chirurgia conservativa della mammella, o breast-conserving surgery (BCS), consistente nella rimozione del tumore con un margine di tessuto sano. Secondo le linee guida NCCN e ESMO, essa rappresenta oggi l'approccio chirurgico di elezione per la maggior parte delle pazienti con carcinoma mammario in fase precoce.(71,72) L'utilizzo della BCS seguita da radioterapia adiuvante ha iniziato a diffondersi come standard di cura negli anni Ottanta del Novecento, quando il trial di Veronesi all'Istituto Nazionale dei Tumori di Milano e quello di Fisher negli Stati Uniti dimostrarono che questo trattamento non differiva dalla mastectomia in termini di sopravvivenza.(212,213) I rispettivi studi di follow-up a 20 anni hanno confermato in entrambi i casi questo risultato, pur documentando un tasso di recidiva locale significativamente più

elevato nella BCS rispetto alla mastectomia (Veronesi: 8,8% vs 2,3%; Fisher: 14,3% vs 10,2%).(214,215)

La scelta dell'intervento deve essere discussa nell'ambito di un processo decisionale condiviso con la paziente, che tenga conto delle sue preferenze, delle sue caratteristiche anatomiche e del profilo di rischio del tumore. Secondo le linee guida ESMO e AIOM, le condizioni necessarie per la BCS comprendono:

- assenza di controindicazioni alla radioterapia adiuvante, parte imprescindibile del trattamento conservativo;
- presenza di tumore unifocale resecabile con margini adeguati;
- rapporto favorevole tra le dimensioni del tumore e il volume mammario tale da consentire un risultato estetico accettabile;
- condivisione del piano terapeutico da parte della paziente.(72,73)

Mastectomia

Le principali indicazioni per la mastectomia comprendono:

- presenza di tumore multicentrico o multifocale esteso, che impedirebbe di avere margini chirurgici adeguati insieme ad un risultato estetico accettabile;
- rapporto sfavorevole tra le dimensioni tumorali e il volume mammario, che precluderebbe un esito cosmetico soddisfacente dopo BCS;
- presenza di controindicazioni assolute alla radioterapia, come ad esempio una precedente irradiazione del torace, gravidanza, alcune connettivopatie;
- scelta informata della paziente;
- casi selezionati di mutazione germinale BRCA1/2, che può orientare verso la mastectomia profilattica bilaterale.

La tecnica più comune è la mastectomia totale semplice. La mastectomia skin-sparing (con conservazione del rivestimento cutaneo) e la mastectomia nipple-sparing (con conservazione dell'areola e del capezzolo) sono associate a immediata ricostruzione e sono riservate a pazienti selezionate.(72,73)

Chirurgia oncoplastica

La chirurgia oncoplastica integra le tecniche della chirurgia plastica e ricostruttiva nell'ambito della BCS. Rispetto alla BCS standard, questo approccio consente di eseguire resezioni più ampie senza compromettere il risultato cosmetico, estendendo di fatto le indicazioni alla chirurgia conservativa anche a pazienti che altrimenti sarebbero candidate alla mastectomia, per un rapporto sfavorevole tra dimensioni tumorali e volume mammario.(72,73)

In termini di sicurezza oncologica, una revisione sistematica su 2.497 pazienti trattate con tecniche di volume replacement (utilizzo di lembi peduncolati o liberi per riempire la cavità chirurgica) ha documentato tassi medi di re-escissione, conversione a mastectomia, recidiva loco-regionale e recidiva a distanza compatibili con quelli della BCS standard, a fronte di dimensioni tumorali medie maggiori.(216) Il principale limite della letteratura disponibile è l'assenza di trial randomizzati: i dati derivano prevalentemente da studi osservazionali, il che rende difficile una valutazione definitiva del profilo di sicurezza a lungo termine.

Fattori prognostici chirurgici

Tra i fattori prognostici derivabili dall'istologia del pezzo operatorio, i margini chirurgici hanno il ruolo centrale. La definizione di margine adeguato nella BCS è stata oggetto di considerevole dibattito fino alla pubblicazione, nel 2014, del consenso della Society of Surgical Oncology (SSO) e dell'American Society for Radiation Oncology (ASTRO). Sulla base di una meta-analisi di 33 studi comprendenti 28.162 pazienti, il panel multidisciplinare ha stabilito che il margine negativo è definito dall'assenza di inchiostro sul tumore invasivo ("no ink on tumor"). I margini positivi raddoppiano il rischio di recidiva, che non viene attenuato nemmeno dall'aggiunta di un boost di dose alla radioterapia. Al contrario, margini di ampiezza superiore al semplice criterio "no ink on tumor" non riducono il tasso di recidiva.(217)

L'invasione linfovaskolare (LVI) è un altro fattore prognostico indipendente. Una meta-analisi su 21.704 pazienti sottoposte a BCS incluse in 15 studi ha dimostrato che la positività per LVI si associa a una riduzione significativa della sopravvivenza globale, a un raddoppio del rischio di recidiva locale e a un incremento del rischio di metastasi a distanza.(218) Le linee guida NCCN e ESMO includono l'invasione linfovaskolare tra i criteri per la scelta della terapia sistemica adiuvante.(71,72)

1.2.4 BIOPSIA DEL LINFONODO SENTINELLA E DISSEZIONE ASCELLARE

Evoluzione dalla dissezione ascellare (DA) alla biopsia del linfonodo sentinella (BLS)

La gestione dei linfonodi ascellari costituisce uno dei passaggi fondamentali dell'intervento chirurgico nel tumore della mammella. Come già accennato, la stadiazione linfonodale rappresenta il più importante fattore prognostico indipendente per la sopravvivenza (sezione 1.1.9).

La dissezione ascellare (DA) consiste nella rimozione completa dei livelli linfonodali I e II (laterale e posteriore al muscolo piccolo pettorale), con eventuale estensione al livello III (mediale al piccolo pettorale). La procedura prevede l'asportazione di almeno 10 linfonodi, per garantire un'adeguata valutazione patologica secondo i criteri dell'AJCC. La DA si associa a una morbidità significativa: il linfedema dell'arto superiore si sviluppa nel 15-25% delle pazienti sottoposte a dissezione ascellare, con stime che in alcuni studi raggiungono il 30% a lungo termine.(219,220) Il linfedema è una delle principali tossicità croniche nel percorso terapeutico del carcinoma mammario (sezione 1.2.7).

Invece, la biopsia del linfonodo sentinella (BLS) si basa sul principio che il drenaggio linfatico della mammella segue percorsi anatomicamente prevedibili: il primo linfonodo che riceve la linfa dal sito tumorale, il cosiddetto "linfonodo sentinella", riflette con alta accuratezza lo stato dell'intera ascella. L'identificazione avviene mediante iniezione perilesionale di uno o più traccianti: il radiocolloide marcato con tecnezio-99m, rilevato tramite sonda gamma-detector, il blu di metilene, che colora selettivamente i linfatici afferenti, oppure il verde di indocianina, rilevato con tecnologia a fluorescenza in infrarosso. L'uso combinato di più traccianti aumenta il tasso di identificazione del linfonodo sentinella. Una volta identificato ed esciso, il linfonodo viene tempestivamente analizzato per fornire indicazioni a una eventuale dissezione ascellare.(221) Solitamente l'analisi viene eseguita mediante esame istologico estemporaneo al criostato; in alcuni centri oggi si usa la tecnica OSNA (One-Step Nucleic Acid Amplification), un metodo molecolare semiquantitativo (sezione 1.3.1). Va segnalato in ogni caso che anche il BLS può causare linfedema, sebbene con tassi molto inferiori rispetto alla dissezione ascellare (5-7%).(220)

Il trial randomizzato NSABP B-32 del 2010, condotto su 5.611 pazienti con linfonodi clinicamente negativi, ha stabilito la non-inferiorità della stadiazione del cavo ascellare tramite biopsia del linfonodo sentinella rispetto a quella tramite dissezione ascellare in termini di sopravvivenza e controllo regionale, a fronte di una incidenza significativamente inferiore di linfedema.(222)

Attualmente le linee guida ESMO e AIOM raccomandano la BLS come standard in tutte le pazienti cN0. La BLS è applicabile anche in situazioni cliniche particolari, tra cui tumori multicentrici, pregressa chirurgia della mammella, pregressa chirurgia dell'ascella e recidive controlaterali (per le quali si potrebbe identificare un drenaggio linfatico aberrante).(72,73)

De-escalation ascellare: omissione della dissezione ascellare (studi IBCSG 23-01, ACOSOG Z0011, SINODAR-ONE e SENOMAC)

Le linee guida ESMO e AIOM indicano che la dissezione ascellare è sempre indicata in caso di pazienti cN+, di mancato reperimento del linfonodo sentinella, di tumori T4 e del carcinoma infiammatorio.(72,73)

In caso di micrometastasi linfonodali alla biopsia, l'evidenza per l'omissione della dissezione ascellare è abbastanza solida. Il trial IBCSG 23-01 del 2018 ha arruolato 934 pazienti con micrometastasi in uno o più linfonodi sentinella e le ha randomizzate a dissezione ascellare o sola osservazione. Il follow-up a 10 anni ha dimostrato la non-inferiorità dell'omissione della dissezione ascellare per la sopravvivenza libera da malattia, a fronte di una riduzione di 3 volte dell'incidenza di linfedema nel gruppo senza dissezione.(223)

In caso invece di macrometastasi alla biopsia, le indicazioni sono più sfumate. Storicamente, una macrometastasi imponeva sempre il completamento con dissezione ascellare. Il paradigma è stato radicalmente modificato dallo studio ACOSOG Z0011, che ha arruolato 856 pazienti con 1-2 linfonodi sentinella positivi, sottoposte a chirurgia conservativa, radioterapia e terapia sistemica adiuvante, randomizzate a dissezione ascellare o omissione della

dissezione. I dati hanno confermato la non-inferiorità dell'omissione della DA per la sopravvivenza, sia a 6 anni (pubblicati nel 2011) sia a 10 anni (pubblicati nel 2017).(224) Il trial italiano multicentrico SINODAR-ONE del 2022 ha successivamente confermato questi risultati su una casistica di 889 pazienti.(225) Lo studio SENOMAC del 2024, che includeva ben 2.766 pazienti, ha esteso l'indicazione anche alle pazienti mastectomizzate, escluse dai trial precedenti.(226)

Attualmente le linee guida AIOM recepiscono l'evidenza raggiunta da ACOSOG Z0011, tuttavia il panel sottolinea i limiti dello studio, in particolare la chiusura anticipata per difficoltà di reclutamento e la prevalenza di pazienti a basso rischio (80% cT1, luminali).(73) ESMO ricorda che il team multidisciplinare deve valutare se il paziente potrebbe beneficiare dei trattamenti adiuvanti con abemaciclib, pertuzumab o olaparib, perchè la conoscenza dello stadio pN potrebbe essere necessaria per la loro somministrazione (sezione 1.2.6).(72)

De-escalation ascellare: omissione della biopsia del linfonodo sentinella (studi SOUND e INSEMA)

Un'ulteriore evoluzione verso la de-escalation consiste nell'omissione completa di qualsiasi procedura chirurgica ascellare in pazienti selezionate.

Il trial SOUND (Sentinel Node vs Observation After Axillary Ultra-Sound) del 2023, condotto in Italia, Svizzera, Spagna e Cile, ha arruolato 1.405 pazienti con cT ≤ 2 cm e cN0 all'ecografia ascellare preoperatoria, randomizzate a biopsia del linfonodo sentinella o omissione di qualsiasi procedura chirurgica ascellare. La sopravvivenza libera da malattia a distanza a 5 anni è stata non-inferiore nel gruppo senza BLS, con un numero statisticamente analogo di recidive locoregionali, metastasi a distanza e decessi. Nel gruppo sottoposto a BLS, il 13,7% delle pazienti è stato diagnosticato con linfonodi ascellari positivi e trattato di conseguenza, eppure ciò non si è tradotto in un vantaggio di sopravvivenza.(227)

Ulteriori evidenze provengono dal trial INSEMA del 2024, condotto su 5.502 pazienti cN0 e questa volta con cT fino a 5 cm. Nuovamente, la sopravvivenza libera da malattia a distanza a 5 anni è stata non-inferiore nel gruppo senza BLS, associandosi a un profilo di morbidità più favorevole.(228)

Attualmente, le linee guida ESMO e AIOM indicano che l'omissione della BLS va valutata caso per caso, particolarmente per pazienti con tumori biologicamente favorevoli, con gravi comorbidità o anziane, per le quali non è pianificata terapia adiuvante sistemica e/o radioterapia.(72,73)

1.2.5 RADIOTERAPIA ADIUVANTE

Indicazioni alla radioterapia dopo chirurgia conservativa

La radioterapia adiuvante (RT) ha un ruolo consolidato nel percorso terapeutico del tumore della mammella. La meta-analisi dell'EBCTCG, basata su 10.801 pazienti, ha quantificato che la

RT dopo chirurgia conservativa riduce il rischio di recidiva e la mortalità a 10 anni: ogni 4 recidive evitate entro i 10 anni si previene 1 morte per tumore entro i 15 anni.(229) Sulla base dei trial britannici START-A e START-B, il regime di 40 Gy in 15 frazioni in 3 settimane è diventato lo standard di cura nella maggior parte dei centri.(230) Secondo le linee guida ESMO e AIOM, la radioterapia sulla mammella residua è indicata in modo pressoché universale nelle pazienti sottoposte a BCS, poiché riduce il rischio di recidiva locale e costituisce il presupposto necessario per l'equivalenza terapeutica con la mastectomia.(72,73)

L'eventuale aggiunta di un boost di dose al letto tumorale riduce ulteriormente il rischio di recidiva, con beneficio maggiore nelle donne giovani.(231)

L'irradiazione linfonodale regionale, o Regional Nodal Irradiation (RNI), comprende le stazioni sovraclaveari, il livello III ascellare e i linfonodi mammari interni. Il trial canadese MA.20 ha mostrato che l'irradiazione mammaria associata a RNI è indicata solo nelle pazienti a rischio elevato, poiché migliora esclusivamente la sopravvivenza libera da malattia ed è associata ad un incremento della polmonite attinica e del linfedema.(232)

Indicazioni alla radioterapia dopo mastectomia

Secondo ESMO e AIOM, la RT post-mastectomia è indicata nelle pazienti con coinvolgimento di 4 o più linfonodi ascellari, nelle quali il beneficio in termini di riduzione delle recidive e di sopravvivenza è solidamente documentato.(72,73) Invece, il ruolo della RT post-mastectomia nelle pazienti con solamente 1-3 linfonodi positivi rimane oggetto di dibattito. Le linee guida attuali raccomandano pertanto un approccio individualizzato.(233)

Tossicità e tecniche di risparmio cardiaco

Il profilo di tossicità della RT mammaria comprende effetti acuti, come eritema, desquamazione, ulcerazione, e tossicità tardive, come fibrosi del parenchima mammario, edema, teleangectasia e cardiotossicità tardiva. Per ridurre l'esposizione cardiaca nelle pazienti con tumore sinistro, lo standard di cura è rappresentato dalla tecnica della Deep Inspiration Breath Hold (DIBH), in cui il trattamento viene erogato durante l'apnea inspiratoria per aumentare la distanza tra cuore e campo di irradiazione.(234)

Radioterapia ascellare come alternativa alla dissezione ascellare: studio AMAROS

Nelle pazienti con linfonodo sentinella positivo per le quali si ritiene necessaria la dissezione ascellare, la radioterapia ascellare (RTA) rappresenta un'alternativa con equivalente controllo locoregionale e minore morbidità.

Il trial EORTC 10981-22023 AMAROS ha arruolato 1.425 pazienti cT1-2 con linfonodo sentinella positivo, randomizzate a dissezione ascellare o radioterapia ascellare. Il follow-up a 10 anni ha mostrato che il tasso di recidiva non presentava differenze statisticamente significative tra i due bracci.(235)

1.2.6 TERAPIA SISTEMICA ADIUVANTE

Terapia endocrina del sottotipo Luminale

Nel carcinoma mammario luminale l'endocrinoterapia è il cardine del trattamento sistemico, con una durata standard di almeno 5 anni. La scelta del tipo e della durata della terapia endocrina dipende dallo stato menopausale e dal profilo di rischio.(73)

Nelle pazienti in postmenopausa, gli inibitori dell'aromatasi (anastrozolo, letrozolo, exemestane) costituiscono la terapia preferenziale. Essi si associano a un maggiore rischio di fratture ossee e di sintomi muscoloscheletrici. La durata standard del trattamento è di 5 anni, con possibilità di estensione fino a 7-10 anni nelle pazienti con linfonodi positivi.(73) Una metanalisi EBCTCG ha documentato una riduzione significativa del rischio di recidiva e di mortalità cancro-specifica rispetto al tamoxifene.(236)

Nelle pazienti in premenopausa, la terapia di riferimento è il tamoxifene (modulatore selettivo del recettore degli estrogeni). Tra gli effetti indesiderati più rilevanti si annoverano il rischio di tromboembolia venosa e un incremento dell'incidenza di tumori dell'endometrio.(73) La metanalisi EBCTCG ha documentato che 5 anni di tamoxifene riducono il rischio di recidiva e di morte cancro-specifica in modo sostanziale, con un effetto carryover che si prolunga per 15 anni.(237)

Nelle pazienti in premenopausa ad alto rischio, le linee guida AIOM raccomandano in prima linea la soppressione della funzione ovarica (OFS) tramite agonisti del recettore GnRH (goserelina e leuprorelina). L'OFS si associa a un profilo di tossicità rilevante di tipo menopausale, che comprende vampate, calo della libido, atrofia vaginale, disturbi dell'umore, osteoporosi e artralgie.(73) Il beneficio è stato dimostrato nello studio SOFT, in cui la combinazione di tamoxifene con OFS ha determinato un aumento significativo della sopravvivenza globale e della sopravvivenza libera da malattia.(238) Nelle pazienti a rischio ancora più elevato può essere presa in considerazione la sostituzione del tamoxifene con un inibitore dell'aromatasi (exemestane), che nello studio TEXT ha dimostrato avere migliore sopravvivenza libera da malattia.(239)

Test Oncotype Dx per la valutazione della chemioterapia nel tumore Luminale

I test genomici hanno assunto un ruolo molto rilevante per la valutazione della chemioterapia nel carcinoma mammario luminale. Il test Oncotype DX è lo strumento con le più solide evidenze prognostiche e predittive (sezioni 1.1.4, 1.1.9).

Lo studio TAILORx ha dimostrato che le pazienti cN0 e con un Recurrence Score ≤ 25 non presentavano una sopravvivenza libera da malattia a 9 anni maggiore anche quando veniva aggiunta la chemioterapia al trattamento. Lo studio RxPONDER ha successivamente esteso queste evidenze anche alle pazienti in postmenopausa cN1. È ancora dibattuta l'utilità della chemioterapia nelle pazienti in pre-menopausa con Recurrence Score 16-25: è controverso se il beneficio della chemioterapia registrato nei trial in questo gruppo sia frutto dell'effetto

citotossico diretto della chemioterapia, oppure sia frutto della soppressione degli estrogeni ovarici esercitata indirettamente dalla chemioterapia.(75,76)

Nelle pazienti candidate alla chemioterapia, lo standard terapeutico è l'associazione sequenziale di antracicline e taxani. Le antracicline espongono a un rischio di cardiotoxicità diretta non reversibile, mentre i taxani si associano a neuropatia periferica dose-dipendente. Tali profili di tossicità devono essere considerati in fase decisionale, particolarmente in pazienti con comorbidità cardiovascolari o fattori di rischio neurologici.(73)

Inibitori di CDK4/6 nel sottotipo Luminale ad alto rischio: studi monarchE e NATALEE

Gli inibitori delle chinasi ciclina-dipendenti 4 e 6 (CDK4/6i) possono essere associati all'endocrinoterapia per prevenire le recidive nei tumori luminali ad alto rischio. Essi agiscono a valle della via di segnalazione del recettore estrogenico: inibiscono le chinasi CDK4/6 e bloccano la transizione del ciclo cellulare dalla fase G1 alla fase S, agendo in sinergia con la deplezione delle cicline determinata dalla terapia ormonale. Questa classe di farmaci era stata inizialmente testata per il trattamento della malattia metastatica; solo molto recentemente hanno iniziato a farsi strada in un contesto adiuvante. Pertanto, le indicazioni cliniche sono in evoluzione e variano sensibilmente da un farmaco all'altro all'interno della medesima classe: la scelta della terapia deve essere fatta in base al profilo di rischio della paziente e alle tossicità specifiche di ogni farmaco.(73)

Abemaciclib si è rivelato l'inibitore di CDK4/6 più efficace in questo setting, mediante il trial monarchE che ha arruolato pazienti con tumore luminale ad alto rischio. L'alto rischio è stato definito nel trial come 4 o più linfonodi positivi, oppure come 1-3 linfonodi positivi insieme a $T \geq 5$ cm o G3. Lo studio ha dimostrato il beneficio dell'aggiunta di abemaciclib per 2 anni rispetto alla sola terapia endocrina, sia in termini di sopravvivenza libera da malattia sia in termini di sopravvivenza globale all'ultimo aggiornamento del follow-up nel 2026. Gli effetti indesiderati più frequenti includono diarrea, neutropenia, tossicità epatica, polmonite interstiziale e aumento del rischio tromboembolico. Questo effetto è particolarmente critico in caso di associazione con tamoxifene, il quale determina anch'esso un maggiore rischio tromboembolico.(240,241) AIFA rimborsa abemaciclib in setting adiuvante dal 2023.(73)

Ribociclib fin'ora ha mostrato un'efficacia leggermente inferiore. Il trial NATALEE ha arruolato pazienti caratterizzate da un diverso profilo di rischio, includendo anche pazienti pN0 se avevano un G3 o un Ki-67 $\geq 20\%$. Lo studio ha dimostrato il beneficio dell'aggiunta di ribociclib per 3 anni rispetto alla sola terapia endocrina in termini di sopravvivenza libera da malattia; ha evidenziato anche un modesto beneficio in termini di sopravvivenza globale, tuttavia questo dato non ha ancora raggiunto la significatività statistica all'ultimo aggiornamento del follow-up nel 2025. Questo dato potrebbe essere determinato dal fatto che la popolazione selezionata per ribociclib presenti tumori con un rischio più basso, attenuando in questo modo l'impatto dell'efficacia a livello della popolazione di studio. I principali effetti collaterali di ribociclib includono neutropenia, epatossicità e allungamento del QTc. Questo effetto è particolarmente critico in caso di associazione con antracicline, le quali determinano anch'esse

cardiotossicità.(242,243) AIFA ha approvato il rimborso di ribociclib in setting adiuvante molto recentemente, il 6 marzo 2026.(244)

Palbociclib, sebbene sia stato la molecola pilota nel setting metastatico, non ha dimostrato beneficio significativo in adiuvante a seguito dei trial PALLAS e PENELOPE-B. Questo risultato ha alimentato il dibattito sulle differenze biologiche tra la malattia micrometastatica e la malattia metastatica a distanza, nonché sulle potenziali differenze farmacologiche intraclassa dei diversi CDK4/6i.(245,246)

Terapia del sottotipo HER2-positivo

Nel carcinoma mammario HER2-positivo la terapia si basa sull'associazione di chemioterapia e trastuzumab per 1 anno. Trastuzumab è un anticorpo monoclonale diretto contro il dominio extracellulare di HER2. Il suo uso è stato validato a inizio anni 2000 dai tre trial HERA, NSABP B-31/NCCTG N9831, BCIRG 006, e ha rivoluzionato la prognosi negativa di questo sottotipo. Trastuzumab determina cardiotossicità, che si manifesta come una riduzione reversibile della funzione sistolica del ventricolo sinistro: richiede un monitoraggio ecocardiografico periodico durante tutto il trattamento.(73,247–249)

Lo studio APHINITY ha validato l'aggiunta di pertuzumab alla terapia adiuvante standard nelle pazienti pN+. Pertuzumab è un anticorpo monoclonale che si lega al dominio di dimerizzazione di HER2 con un'azione farmacologica complementare a quella di trastuzumab. In questo modo i due anticorpi determinano il cosiddetto “doppio-blocco”, o “dual-blockade”, di HER-2.(250)

Le pazienti HER2-positive che non raggiungono la pCR dopo terapia neoadiuvante presentano una prognosi significativamente più sfavorevole. In questo caso, lo studio KATHERINE ha dimostrato che sostituire in setting adiuvante trastuzumab con trastuzumab-emtansina (T-DM1) determina un aumento della sopravvivenza libera da malattia.(251) Analogamente ai CDK4/6i, Trastuzumab emtasina è un farmaco testato inizialmente per la malattia metastatica che adesso si sta facendo strada anche in setting adiuvante. Esso appartiene alla classe degli anticorpi farmaco-coniugati, o antibody-drug conjugate (ADC): questi anticorpi legano selettivamente la cellula tumorale, vengono internalizzati da essa e rilasciano al suo interno l'agente citotossico coniugato.

Terapia del sottotipo Triplo-negativo

Nel carcinoma mammario triplo-negativo la terapia si basa innanzitutto sulla chemioterapia.(73) Un cambiamento di paradigma recente è stato l'introduzione dell'immunoterapia con pembrolizumab nei pazienti in stadio II-III. Questa aggiunta è stata validata dal trial KEYNOTE-522, lo stesso trial che ha dimostrato l'efficacia dell'immunoterapia anche in setting neoadiuvante (sezione 1.2.2). L'immunoterapia può determinare l'insorgenza di eventi avversi immuno-correlati, in particolare endocrinopatie e polmoniti autoimmuni.(211)

Nelle pazienti che non raggiungono la pCR dopo la terapia neoadiuvante, lo studio CREATE-X ha documentato che la capecitabina migliora significativamente la sopravvivenza.(252)

Terapia del tumore BRCA-mutato

Infine, anche le pazienti portatrici di varianti patogenetiche di BRCA1/2 beneficiano di un farmaco specifico per questa popolazione. A causa della mutazione genetica, queste pazienti presentano un deficit congenito del pathway di ricombinazione omologa: gli inibitori della poli-ADP-ribosio-polimerasi (PARPi) inattivano anche l'enzima responsabile del riparo dei danni del DNA a singola elica, determinando in questo modo un danno mirato al tumore.

Lo studio OlympiA ha valutato il beneficio della somministrazione di olaparib in pazienti BRCA-mutate con tumore triplo negativo ad alto rischio, definito come assenza di pCR alla terapia neoadiuvata oppure come $pN \geq 1$: tale trattamento ha mostrato un miglioramento significativo della sopravvivenza globale.(73,253)

1.2.7 FOLLOW-UP

Organizzazione

Il follow-up delle pazienti operate per carcinoma mammario in fase precoce persegue due obiettivi fondamentali: l'identificazione precoce delle recidive locoregionali e il monitoraggio delle tossicità a lungo termine indotte dai trattamenti (sezione 1.2.8).

La visita clinica associata a un'accurata raccolta anamnestica rappresenta lo strumento principale per l'intercettazione delle recidive locoregionali, contribuendo alla diagnosi in una proporzione compresa tra il 15% e il 46% dei casi. Le linee guida AIOM raccomandano che le pazienti vengano valutate ogni 3-6 mesi durante i primi tre anni dall'intervento, ogni 6-12 mesi per i due anni successivi, e annualmente a partire dal sesto anno. Tuttavia, la qualità delle prove è giudicata molto bassa e eterogenea e la raccomandazione è condizionata. Va sottolineato che tali intervalli, condivisi anche dalle altre linee guida internazionali, sono basati su prassi cliniche consolidate piuttosto che su evidenze sperimentali, non essendo stati condotti studi solidi e mirati su questa tematica. Nelle pazienti $pT < 2$ e $pN < 2$, dopo il primo anno dalla diagnosi, le linee guida AIOM riconoscono la possibilità di delegare il follow-up di routine al medico di medicina generale.

Le evidenze disponibili indicano che la sorveglianza mammografica si associa a una riduzione della mortalità indipendentemente dall'età, grazie alla diagnosi precoce delle recidive locali. Le linee guida AIOM raccomandano quindi con forza l'esecuzione di una mammografia annuale per la mammella residua e/o controlaterale. La RM mammaria non è raccomandata come esame di routine nel follow-up. Analogamente, l'ecografia mammaria periodica non è raccomandata per inconclusive evidenze scientifiche. Per le pazienti sottoposte a mastectomia, i bassi tassi di detezione di neoplasia occulta non supportano l'imaging sistematico di sorveglianza.

Nelle pazienti con mutazione dei geni BRCA1/2, il follow-up post-trattamento si inserisce in un percorso di sorveglianza ad alto rischio. Questo prevede l'aggiunta di una RM mammaria

annuale alla mammografia annuale, alternando i due esami ogni 6 mesi al fine di massimizzare la sensibilità di rilevamento.(73)

Assenza di beneficio clinico del follow-up intensivo

Una delle acquisizioni più solide riguarda l'inutilità del cosiddetto follow-up intensivo, inteso come esecuzione routinaria di esami sistemici in assenza di sospetto clinico (radiografia del torace, ecografia addominale, TC total body, scintigrafia ossea, PET-FDG, marcatori tumorali sierici).

Questa indicazione trova fondamento nei risultati di alcuni trial italiani degli anni Novanta, confermati da successive metanalisi. In particolare, il trial GIVIO ha randomizzato le pazienti a ricevere una sorveglianza intensiva oppure un follow-up standard. Al follow-up mediano di 71 mesi non sono emerse differenze nella sopravvivenza tra i due gruppi.(254) La revisione Cochrane del 2016, che ha analizzato 5 trial per un totale di 4023 pazienti, ha confermato che il follow-up basato sulla sola visita clinica e sulla mammografia annuale è equivalente. La stessa evidenza è stata riscontrata per il follow-up gestito dal medico di medicina generale rispetto a quello gestito dallo specialista ospedaliero.(255)

1.2.8 MONITORAGGIO DELLE TOSSICITÀ A LUNGO TERMINE INDOTTE DALLA TERAPIA E POPOLAZIONI SPECIALI

Riabilitazione funzionale del linfedema da chirurgia ascellare

Il linfedema dell'arto superiore rappresenta una delle sequele più frequenti e invalidanti del trattamento chirurgico del carcinoma mammario. La prevalenza del linfedema attualmente è stimata come circa 1 caso ogni 7 pazienti trattate, sebbene le stime varino ampiamente in funzione dei criteri diagnostici e della durata del follow-up. La storia naturale della malattia è caratterizzata da un progressivo aumento della circonferenza dell'arto affetto, fibrosi, infiammazione cronica, deposizione adiposa anomala e patologia cutanea, con aumento del rischio di infezioni ricorrenti. Il linfedema determina dolore cronico, parestesie, riduzione della forza e limitazione funzionale dell'arto superiore, con un impatto rilevante sulla qualità di vita e un incremento del burden assistenziale nel follow-up.

Una meta-analisi di 67 studi ha documentato che la prevalenza di linfedema è significativamente superiore dopo dissezione ascellare rispetto alla sola biopsia del linfonodo sentinella. Analogamente, la prevalenza di dolore postoperatorio, di riduzione della forza e di riduzione del range of motion è maggiore nel caso della dissezione ascellare. Oltre alla chirurgia ascellare, i principali predittori di morbidità dell'arto superiore sono BMI elevato e radioterapia.

Le opzioni terapeutiche comprendono strategie conservative, tra cui terapia decongestiva con tutori compressivi o compressione pneumatica intermittente, e un crescente arsenale di interventi chirurgici, inclusa la liposuzione per le forme tardive. Tutte le pazienti a rischio

dovrebbero essere educate sui segnali di allarme precoci e sui fattori di rischio modificabili.(256,257)

Prevenzione delle fratture patologiche da inibitori dell'aromatasi e soppressione ovarica

Le terapie endocrine adiuvanti determinano un marcato ipoestrogenismo, con conseguente osteoporosi e aumento del rischio di fratture patologiche. Nelle donne in premenopausa, gli analoghi del GnRH determinano una deplezione estrogenica analoga a quella della menopausa chirurgica. Nelle donne in postmenopausa, gli inibitori dell'aromatasi sopprimono la produzione extragonadica residua di estrogeni e incrementano il rischio di frattura rispetto al tamoxifene, che al contrario esercita un effetto protettivo in questa popolazione.(258) La metanalisi dell'EBCTCG su 31.920 pazienti ha quantificato una probabilità di frattura a 5 anni dell'8,2% con inibitori dell'aromatasi rispetto al 5,5% con tamoxifene.(259)

Il trial ABCSG-18, su pazienti in postmenopausa con inibitori dell'aromatasi, ha dimostrato che denosumab riduce in modo significativo il rischio di frattura a 36 mesi (5% vs 9,6%).(260) Tre studi randomizzati (Z-FAST, ZO-FAST, E-ZO-FAST) hanno documentato che il zolendronato, avviato all'inizio della terapia con inibitore dell'aromatasi, preserva e incrementa la densità minerale ossea rispetto a un avvio ritardato.(261)

Le linee guida AIOM raccomandano la valutazione della densità minerale ossea mediante mineralometria ossea computerizzata (DEXA) e l'esecuzione di test endocrinologici periodici durante l'endocrinoterapia. Indicano che dovrebbe essere presa in considerazione una terapia con farmaci inibitori del riassorbimento osseo in tutte le pazienti in postmenopausa in terapia ormonale, sin dall'inizio della terapia.(73)

Gestione del rischio cardiovascolare da trastuzumab e antracicline

Le antracicline e il trastuzumab espongono le pazienti a un importante rischio di cardiotoxicità. L'effetto delle antracicline è dose-dipendente e irreversibile, mentre l'effetto del trastuzumab è reversibile. Le due tossicità hanno un effetto sinergico quando i farmaci sono somministrati in sequenza o in associazione.

Per questo motivo, AIOM raccomanda la valutazione basale della funzione ventricolare sinistra mediante ecocardiografia o scintigrafia prima dell'inizio della terapia nel caso di entrambi. Questa deve essere seguita da un monitoraggio con ecocardiografia ogni 3-4 mesi durante la terapia con trastuzumab. Invece, per le pazienti che hanno ricevuto antracicline, raccomanda un ECG entro 12 mesi dal termine della terapia.(73)

Monitoraggio endometriale con tamoxifene

Il tamoxifene esercita un effetto agonista estrogenico sull'endometrio, con conseguente aumento del rischio di iperplasia endometriale, polipi e carcinoma endometriale nelle donne in postmenopausa. Le pazienti devono essere informate di tale rischio ed essere monitorate per la comparsa di metrorragia o spotting. AIOM stabilisce che, in caso di trattamento con

tamoxifene, dovrebbe essere eseguita una valutazione ginecologica iniziale con ecografia transvaginale, seguita da controlli ginecologici annuali.

Diversamente, le donne in premenopausa trattate con tamoxifene non presentano un aumento significativo del rischio e non richiedono esami seriali.(73)

Pazienti anziane: valutazione geriatrica multidimensionale (VMD) e de-escalation della radioterapia

L'età si associa alla prognosi con un andamento bimodale, agli estremi della distribuzione. All'estremo superiore, l'età avanzata rappresenta un fattore prognostico sfavorevole. Lo studio di popolazione olandese di Bastiaannet et al., condotto su 127.805 pazienti, ha documentato che le pazienti anziane (≥ 65 anni) presentavano una sopravvivenza relativa inferiore rispetto alle più giovani, indice di un eccesso di mortalità attribuibile al tumore e non riconducibile alla sola mortalità competitiva per cause non oncologiche. Le stesse pazienti venivano peraltro diagnosticate in stadio più avanzato e ricevevano meno chirurgia e meno trattamento sistemico adiuvante. Pertanto, gli autori riconducono questo svantaggio prognostico a una selezione subottimale delle pazienti, con possibile sotto-trattamento di quelle in buone condizioni generali.(262)

Proprio per questo motivo la gestione della paziente anziana richiede strumenti dedicati di stratificazione. L'International Society of Geriatric Oncology e l'EUSOMA raccomandano una valutazione geriatrica multidimensionale (VGM) come strumento di screening prima di intraprendere qualsiasi trattamento oncologico. Lo studio GAP70+, che ha arruolato pazienti ≥ 70 anni aventi neoplasie solide o linfomi, ha dimostrato che si riduceva la proporzione di pazienti con tossicità di grado 3-5 se gli oncologi ricevevano una VGM con raccomandazioni gestionali individualizzate (71% vs 51%).(263)

Le indicazioni alla radioterapia adiuvante de-escalata nel caso di pazienti anziane a basso rischio sono consolidate. Il trial randomizzato PRIME II del 2015 ha arruolato donne di età ≥ 65 anni con carcinoma ≤ 3 cm, N0, HR+, sottoposte a BCS con margini liberi, in trattamento con terapia endocrina adiuvante; queste sono state randomizzate a somministrazione di radioterapia o omissione di radioterapia. L'aggiornamento a 10 anni, pubblicato nel 2023, ha mostrato che il tasso di recidiva ipsilaterale era maggiore rispetto alle pazienti irradiate (9,5% vs 0,9%), senza tuttavia differenze nella sopravvivenza globale e nella sopravvivenza libera da malattia a distanza.(264) Un meccanismo concettuale analogo supporta l'uso dell'irradiazione parziale della mammella, o Partial Breast Irradiation (PBI), in pazienti anziane selezionate. Essa consiste nell'irradiare esclusivamente il letto chirurgico anziché l'intera mammella, basandosi sull'osservazione che la maggioranza delle recidive si verifica nel quadrante del tumore primitivo.(265)

Trattamento e prognosi del tumore della mammella maschile

Secondo AIOM, il carcinoma mammario maschile si presenta frequentemente in stadio più avanzato a causa della scarsa consapevolezza diagnostica. I fattori prognostici e la

sopravvivenza aggiustata per stadio sono sovrapponibili a quelli delle donne di pari età. L'85% circa dei pazienti uomini è sottoposto a mastectomia. Il tamoxifene rappresenta lo standard di terapia endocrina adiuvante, con durata del trattamento di almeno 5 anni e eventuale estensione a 10 anni in base al profilo di rischio.(73)

1.2.9 GESTIONE DELLE RECIDIVE

Recidiva locoregionale

Un aspetto peculiare del carcinoma mammario è la capacità delle cellule tumorali disseminate di entrare in uno stato di dormienza nei siti metastatici, rimanendo quiescenti per anni o addirittura decenni prima di riattivarsi e dare origine a metastasi clinicamente evidenti. Questo fenomeno spiega perché circa il 30% delle pazienti con carcinoma mammario apparentemente guarito sviluppa una recidiva metastatica a distanza di tempo.(266,267)

La ripresa di malattia dopo il trattamento primario configura due scenari clinici differenti per prognosi. Il primo è la recidiva locoregionale, che consiste nella ricomparsa della neoplasia nella mammella ipsilaterale, nella parete toracica o nelle stazioni linfonodali regionali. Essa rappresenta un evento potenzialmente ancora guaribile e viene affrontata con intento curativo.(73)

Una metanalisi condotta su 2.669 pazienti pN+, arruolate in cinque trial del National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project, ha paragonato la recidiva mammaria ipsilaterale con le altre recidive locoregionali, rilevando che la sopravvivenza libera da metastasi a distanza a cinque anni si riduceva particolarmente nel caso delle seconde (51% vs 19%). Tali dati mostrano che la recidiva locoregionale, pur essendo trattabile con intento curativo, costituisce comunque un marcatore di rischio biologico sfavorevole e si associa a una maggiore probabilità di successiva disseminazione a distanza.(268) I principali fattori prognostici sfavorevoli associati a recidiva locoregionale comprendono intervallo libero < 2 anni dalla chirurgia primaria, interessamento cutaneo o linfonodale, recidiva dopo mastectomia, perdita dell'espressione dei recettori ormonali. Infatti, alla prima recidiva è raccomandata una biopsia della lesione con rivalutazione di ER, PR, HER2, poiché può sussistere una discordanza recettoriale rispetto al tumore primitivo che ovviamente modifica la terapia.(73)

Recidiva metastatica

La recidiva metastatica, al contrario, è una condizione che allo stato attuale delle conoscenze non è guaribile: viene gestita con l'intento di controllo cronico della malattia, al pari della malattia metastatica de novo. Proprio perché le due forme di recidiva implicano obiettivi terapeutici differenti, distinguere la recidiva locoregionale da quella metastatica è determinante nella scelta del percorso di cura; per questo ogni recidiva, indipendentemente dalla sede di riscontro, richiede una ristadiatione completa della malattia.(73) La gestione della recidiva metastatica viene discussa nelle linee guida ESMO e AIOM sul tumore della mammella avanzato.(191,192)

La metanalisi di Caswell-Jin et al. (sezione 1.1.9) mostra che negli ultimi decenni l'obiettivo della cronicizzazione è concretamente raggiungibile in una quota crescente di pazienti.(187) Tale risultato deve però confrontarsi con la biologia evolutiva del tumore. Come argomentato da Pienta et al. (2020), le neoplasie possiedono una capacità di evolvere rapidamente sotto pressione selettiva, inclusa quella esercitata dalla terapia. In questo modo generano con alta probabilità varianti resistenti e metastatizzanti, secondo un percorso di evoluzione convergente comune ai diversi tipi di tumori.(269) In questa prospettiva, Garemla et al. (2025) sottolineano come il futuro del trattamento della malattia metastatica risieda nella transizione verso una medicina adattativa e personalizzata, fondata sulla stratificazione molecolare e sul monitoraggio in tempo reale dell'emergenza di cloni resistenti.(270)

1.3 TECNICA OSNA PER L'ANALISI DEL LINFONODO SENTINELLA

1.3.1 FONDAMENTI TECNICI E DIAGNOSTICI

Principi biologici

La tecnica OSNA (One-Step Nucleic Acid Amplification) è un saggio molecolare automatizzato, sviluppato da Sysmex Corporation (Kobe, Giappone) e introdotto nella pratica clinica nel 2007. È stato concepito per la rilevazione rapida e semiquantitativa delle metastasi nel linfonodo sentinella nel tumore della mammella. La quantificazione del risultato costituisce l'elemento distintivo della metodica rispetto alle tecniche istologiche morfologiche e qualitative, in quanto traduce la presenza e l'entità della metastasi linfonodale in una variabile numerica oggettiva e riproducibile.

La metodica si basa sull'impiego della citocheratina 19 (CK19) come marcatore surrogato della presenza di cellule epiteliali neoplastiche. Essa è una proteina del citoscheletro fisiologicamente espressa dalle cellule epiteliali nella grande maggioranza dei carcinomi mammari, mentre normalmente è assente dal tessuto linfonodale: ciò la rende un bersaglio ideale per identificare il tessuto metastatico.(271)

Procedura operativa e meccanismo di analisi

Sul piano operativo, la procedura OSNA è una tecnica di analisi intraoperatoria della biopsia del linfonodo sentinella al pari dell'istologia estemporanea al congelatore. Il linfonodo viene identificato durante l'intervento, viene esciso e viene mandato in laboratorio ad analizzare. Qui la biopsia viene separata nei vari linfonodi che la compongono, i quali vengono pesati, misurati e eventualmente sezionati. A questo punto, il tessuto viene sottoposto a omogeneizzazione completa in un tampone di lisi dedicato (Lynorhag). Il lisato così ottenuto viene analizzato direttamente dallo strumento, senza dover eseguire estrazione né purificazione dell'RNA, semplificando il processo.(271)

Il meccanismo analitico si basa sull'amplificazione isotermica dell'mRNA mediante tecnologia RT-LAMP (Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification), che combina la retrotrascrizione e l'amplificazione del materiale genico in un'unica reazione condotta a temperatura costante, senza la necessità dei cicli termici richiesti dalla PCR convenzionale. Tale meccanismo permette di ottenere un risultato in tempi compatibili con la durata dell'intervento chirurgico.(272)

La prima versione dello strumento è stata RD-100i, commercializzato nel 2007 e aggiornato poi nel 2018 con RD-200. Secondo lo studio peer-reviewed di validazione di RD-200, pubblicato da Shimazu in collaborazione con i ricercatori dipendenti di Sysmex, esso attualmente consente di analizzare fino a 14 campioni in contemporanea e di valutare 2 linfonodi in circa 17 minuti. Complessivamente, tutta la procedura di refertazione richiede circa 30-40 minuti per 2 linfonodi, intervallo tale da permettere al chirurgo in sala operatoria di assumere la decisione sul cavo ascellare nel medesimo intervento.(273)

Interpretazione dei risultati

Il risultato è espresso come numero di copie di mRNA di CK19 per microlitro (copie/ μ L). Lo studio di Tsujimoto et al. (Clinical Cancer Research, 2007) ha stabilito le soglie tuttora in uso nella classificazione standard della tecnica OSNA. Essa si basa su 3 categorie quantitative, che replicano le categorie qualitative istologiche:

- risultato negativo (-), con valori inferiori a 250 copie/ μ L; corrisponde all'assenza di metastasi nel linfonodo sentinella.
- risultato positivo per micrometastasi (+), con valori ≥ 250 e < 5.000 copie/ μ L; corrisponde alla presenza di micrometastasi nel linfonodo sentinella, ovvero depositi metastatici di dimensioni $> 0,2$ mm e $\leq 2,0$ mm.
- risultato positivo per macrometastasi (++), con valori ≥ 5.000 copie/ μ L; corrisponde alla presenza di macrometastasi nel linfonodo sentinella, ovvero depositi metastatici di dimensioni $> 2,0$ mm.(271)

Accuratezza diagnostica

I numerosi studi di valutazione della tecnica OSNA sono stati accomunati generalmente dallo stesso disegno sperimentale individuato dallo studio di Tsujimoto. Ogni linfonodo sentinella era sezionato in 4 parti: ciascuna parte veniva destinata alternativamente o all'esame OSNA, o all'esame istologico definitivo a tre livelli e all'immunoistochimica per CK19. Lo studio di Tsujimoto, condotto su 6 centri e su 325 linfonodi provenienti da 101 pazienti, sia su linfonodi sentinella sia su linfonodi non sentinella, ha documentato che la concordanza tra le due metodiche era del 98,2%.(271)

La trasferibilità di questi risultati a una popolazione occidentale è stata confermata dallo studio tedesco del 2009 di Schem et al., condotto su 343 linfonodi ascellari provenienti da 93 pazienti. Esso ha documentato che il tasso di concordanza era del 91,8%, la sensibilità del 98,1% e la specificità del 90,8%. Gli autori hanno concluso che l'OSNA costituisce un metodo eccellente per la diagnosi intraoperatoria delle metastasi linfonodali nel carcinoma mammario.(274)

Lo studio multicentrico del 2009 di Tamaki et al., condotto su 450 linfonodi provenienti da 164 pazienti, ha rafforzato ulteriormente l'evidenza, documentando una concordanza con l'istologia definitiva del 92,9%, con sensibilità del 95% e specificità del 97,1%. Gli autori hanno concluso che l'OSNA rileva le metastasi linfonodali con accuratezza pari a quella della patologia convenzionale, potendone rappresentare un'alternativa o un complemento per l'esame intraoperatorio.(275)

Infine, il più ampio studio multicentrico statunitense del 2011 di Feldman et al., su 1.044 linfonodi provenienti da 496 pazienti, ha documentato una concordanza con l'istologia definitiva del 95,8%, con sensibilità dell'77,5% e specificità del 95,8%.(276)

Il consolidamento quantitativo di queste evidenze si deve alle meta-analisi successive. Una meta-analisi del 2017 di Shi et al., su 12 studi comprendenti 2.833 pazienti, ha documentato

una sensibilità dell'87%, una specificità del 92% e un AUC di 0,94., concludendo che l'OSNA può sostituire i metodi diagnostici intraoperatori tradizionali.(277) Una meta-analisi di questo stesso gruppo, pubblicata nel 2018 e dedicata specificatamente alle macrometastasi, ovvero il bersaglio clinicamente più rilevante, ha documentato una sensibilità dell'85%, una specificità del 98% e un AUC di 0,94.(278)

Infine, la meta-analisi più recente e ampia del 2024 di Liu et al., su 29 studi comprendenti 5.331 pazienti e 10.343 linfonodi, ha documentato una sensibilità dell'86%, una specificità del 94% e un AUC di 0,97. Essa ha confermato la stabilità delle prestazioni a oltre quindici anni dall'introduzione del metodo, pur segnalando la necessità di ulteriori studi multicentrici ben disegnati per consolidarne definitivamente il valore.(279)

Nel complesso, la traiettoria di questa letteratura delinea un quadro coerente. Dalla definizione dei valori soglia molecolari e dalla validazione iniziale, attraverso la conferma in coorti multicentriche e fino alla sintesi tramite meta-analisi, la tecnica OSNA si è progressivamente affermata come metodica intraoperatoria accurata e riproducibile. Essa ha dimostrato una specificità elevata e prestazioni quantomeno equivalenti a quelle delle tecniche intraoperatorie tradizionali, se non in alcuni aspetti anche superiori.

1.3.2 VANTAGGI RISPETTO ALL'ISTOLOGIA INTRAOPERATORIA

Superamento del limite di campionamento e maggiore sensibilità per le micrometastasi

Il principale vantaggio metodologico della tecnica OSNA consiste nel fatto che viene analizzato l'intero linfonodo, superando i limiti di campionamento dell'istologia estemporanea al congelatore o della citologia per impronta. In questo modo si riduce la probabilità di non includere i depositi metastatici nella sezione e di ottenere un falso negativo, in particolare per quanto riguarda le micrometastasi.

Lo studio di Osako et al. del 2011, confrontando 531 pazienti analizzate con OSNA e 618 pazienti analizzate con sezione al criostato, ha rilevato un tasso di positività del linfonodo sentinella significativamente superiore con l'OSNA (22,8% vs 17,6%), differenza imputabile interamente ad un aumento della diagnosi di micrometastasi (8,7% vs 4,5%).(280)

Invece, il trial di Le Frère-Belda et al. del 2012 ha valutato 503 linfonodi provenienti da 233 pazienti, ciascuno dei quali veniva destinato per metà alla tecnica OSNA e per metà all'istologia intraoperatoria; i risultati sono stati poi confrontati con l'istologia definitiva in paraffina, eseguita sui campioni avanzati dall'istologia intraoperatoria. Lo studio ha documentato una sensibilità del 91,4% per l'OSNA, nettamente superiore al 63,6% dell'istologia al congelatore e al 47,1% della citologia per impronta, confermando la maggiore capacità di rilevare metastasi linfonodali di piccole dimensioni.(281)

In questo scenario, la maggiore sensibilità dell'OSNA per le micrometastasi aveva inizialmente sollevato il timore di un sovratrattamento ascellare. Ciononostante, lo studio olandese di van

Haaren et al., che ha confrontato 1.086 pazienti con OSNA e 35.143 pazienti con istologia tradizionale, ha confermato che l'OSNA individua una quota maggiore di micrometastasi (14,9% vs 7,9%) senza alcun incremento della chirurgia ascellare (14,3% vs 14,4%).(282) Analogamente, anche lo studio olandese di Hintzen et al. ha dimostrato che l'impiego di OSNA non determina aumento del numero di dissezioni ascellari o di irradiazioni ascellari.(283)

Velocità di refertazione e riduzione dei tempi operatori

L'impiego dell'OSNA comporta anche vantaggi organizzativi rilevanti per l'intervento chirurgico. In particolare, in caso di positività, comporta la possibilità di completare la dissezione ascellare nella stessa seduta operatoria, evitando un secondo intervento e anticipando l'inizio della terapia sistemica adiuvante.

Lo studio retrospettivo di Bertozzi et al. del 2022 ha confrontato 2.412 interventi con biopsia del linfonodo sentinella dal 2005 in poi. Fra questi sono state distinte tre diverse coorti: esame istologico definitivo, sezione al congelatore e OSNA. Lo studio non ha evidenziato differenze significative nella sopravvivenza libera da malattia a cinque anni (rispettivamente 96,38%; 96,37%; 96,51%) né nella sopravvivenza globale. Tuttavia, la durata dell'intervento chirurgico era significativamente inferiore nel gruppo che aveva fatto analisi OSNA rispetto a quello che aveva fatto analisi al criostato ($42,1 \pm 5,1$ vs $70,1 \pm 10,5$ minuti).(284)

Nel 2013 lo studio di Klingler et al., su 381 pazienti, ha mostrato che l'uso dell'OSNA riduceva il tasso di reintervento dal 39% al 9% e anticipava l'inizio della terapia adiuvante da 8,4 a 6,2 settimane.(285)

1.3.3 LIMITI RISPETTO ALL'ISTOLOGIA INTRAOPERATORIA

Irreversibilità dell'analisi e perdita del tessuto linfonodale

Una prima limitazione è rappresentata dalla distruzione completa del tessuto linfonodale al seguito dell'analisi: l'omogeneizzazione necessaria per processare la biopsia con lo strumento consuma integralmente il linfonodo sentinella. Ciò rende impossibile la valutazione istologica del campione in secondo momento, per risolvere situazioni borderline o per determinare parametri prognostici morfologici come l'estensione metastatica extra-capsulare.

Questa caratteristica impone un algoritmo diagnostico definito a priori, costituendo un compromesso intrinseco con il guadagno in standardizzazione e rapidità del test molecolare.(286)

Inibizione della reazione di amplificazione

Sempre sul piano analitico, a volte i fattori presenti nel lisato linfonodale possono inibire la reazione di amplificazione, generando risultati "positivi per inibizione". L'inibizione viene individuata dallo strumento confrontando analisi del campione a diversa diluizione: un lisato risultato negativo che diventa positivo dopo diluizione 1:10 indica la presenza di sostanze

interferenti, il cui effetto viene ridotto dalla diluizione. In ogni caso, lo strumento RD-200 del 2018 ha ridotto la frequenza delle reazioni di inibizione rispetto allo strumento precedente.(273)

Lo studio del 2018 di Horimoto et al. ha chiarito tali meccanismi molecolari, associandoli in particolare a tumori di grandi dimensioni, pazienti giovani e un elevato infiltrato linfocitario tumorale (TIL).(287)

Tumori della mammella CK19-negativi

L'affidabilità biologica del saggio è condizionata dal grado di espressione della CK19 da parte del tumore primitivo. Infatti, esiste una quota minoritaria di neoplasie con espressione di CK19 ridotta o assente, stimata indicativamente tra il 2% e il 10% a seconda delle casistiche. Ciò avviene più frequentemente nei tumori triplo-negativi, nei carcinomi scarsamente differenziati e in alcuni istotipi speciali. Tali casi determinano risultati OSNA falso negativi.

Per ovviare a questo limite, è raccomandata la valutazione immunistochemica dell'espressione della CK19 sulla biopsia preoperatoria, così da selezionare le pazienti realmente idonee all'analisi molecolare.(288,289)

Riduzione della sensibilità in caso di chemioterapia neoadiuvante

Lo studio del 2015 di Takamoto et al., condotto su 300 linfonodi totali tra linfonodi sentinella e linfonodi non sentinella in pazienti trattate con chemioterapia neoadiuvante, ha documentato che essa può ridurre significativamente l'espressione dell'mRNA di CK19 proprio nel linfonodo sentinella. Questo determinava una diminuzione della sensibilità dell'OSNA, in particolare per le micrometastasi (87,8% per linfonodo sentinella vs 95,1% per linfonodo non sentinella; $p = 0,021$). (290)

Pertanto, secondo ESMO e secondo il PDTA della Regione Emilia-Romagna, la tecnica OSNA attualmente non è indicata in questo sottogruppo. Tale limitazione assume rilevanza in un contesto oncologico in cui il ricorso a questo approccio terapeutico è in costante aumento.(72,74)

Rischio di sovrastima delle macrometastasi

Nel 2014 Tiernan et al. hanno condotto una meta-analisi su 12 studi di validazione della tecnica OSNA, comprendenti 5.057 linfonodi e 2.192 pazienti. Questa analisi ha stimato che la tecnica OSNA ha un valore predittivo positivo per le macrometastasi solamente del 79%: ciò implica che fino al 21% delle pazienti classificate OSNA-positivo per macrometastasi non sarebbero state avviate a dissezione ascellare se la biopsia fosse stata processata con l'istologia estemporanea al criostato.

Gli autori concludono che l'OSNA presenta un valore predittivo positivo inaccettabilmente basso, con dissezioni ascellari che non sarebbero necessarie né raccomandate in presenza del gold standard istologico.(291)

Rapporto costi-benefici

Sul piano economico, l'adozione della metodica OSNA richiede acquisizione della strumentazione, acquisizione dei reagenti per ciascun linfonodo analizzato, formazione del personale tecnico e implementazione di programmi di controllo di qualità. Questi oneri comportano un investimento iniziale e ne rendono la sostenibilità dipendente da volumi di attività adeguati.

Per valutare queste variabili, nel 2015 Huxley et al. hanno prodotto un Health Technology Assessment sullo strumento OSNA RD-100i, commissionato dal National Institute for Health Research del Regno Unito. Questa è una metanalisi di accuratezza diagnostica, impatto clinico e bilancio costi-benefici nel contesto del sistema sanitario pubblico britannico. L'analisi di 5 studi ha stimato per OSNA una sensibilità di 84,5% e una specificità di 91,8%; a un tasso di positività nodale del 20%, l'OSNA comportava un risparmio netto attualizzato di 498£ rispetto all'istologia. Tuttavia, al tempo stesso determinava una perdita di 0,048 QALY (anno di vita corretto per la qualità), sia a causa dei falsi negativi, ovvero metastasi non rilevate, sia a causa dei falsi positivi, ovvero dissezioni ascellari in più con rischio di linfedema. Questa perdita era piccola ma significativa, e associava a ogni risparmio di 4.324£ la perdita di 1 QALY. Gli autori hanno concluso che l'OSNA non era costo-efficace nel contesto del NHS britannico.(292)

Limitazioni di peso

Se un linfonodo sentinella pesa < 0,05 g (50 mg), esso è considerato troppo piccolo per garantire un risultato affidabile. In questi casi si rende obbligatoria l'analisi tradizionale con istologia al congelatore.

Allo stesso modo, lo strumento non può processare un campione > 0,6 g (600 mg). In questo caso il limite è risolto facilmente sezionando e analizzando il linfonodo sentinella in parti più piccole; i valori dei risultati delle singole parti verranno poi sommati insieme dopo l'analisi.(273)

1.3.4 ADOZIONE DELLA TECNICA NEI PAESI AD ALTO REDDITO

La diffusione della tecnica OSNA nella pratica clinica presenta una marcata disomogeneità geografica, riconducibile sia all'origine della metodica sia ai diversi orientamenti dei sistemi sanitari nazionali.

La metodica è stata sviluppata in Giappone (sezione 1.3.1) e qui ha trovato ampia adozione, infatti gran parte della letteratura di validazione diagnostica proviene da studi giapponesi.

Tra i Paesi anglosassoni, il Regno Unito rappresenta il contesto in cui la tecnica OSNA ha conosciuto la diffusione più ampia e meglio documentata. Il Royal Surrey County Hospital di Guildford è stato il primo centro del Regno Unito ad adottare la metodica, nel 2008.(293) La spinta decisiva all'adozione è provenuta dal National Institute for Health and Care Excellence (NICE) che nel 2013 la approvò per la diagnosi intraoperatoria, con l'obiettivo di evitare il re-

intervento per la chirurgia ascellare e di accelerare l'avvio della terapia adiuvante.(294) Tuttavia, la meta-analisi di Tiernan et al. del 2014 e l'Assessment di Huxley et al. del 2015 (sezione 1.3.3) si sono espresse molto nettamente sui limiti della tecnica, ben evidenziando l'ambivalenza del consenso britannico.

Va segnalato che la documentazione relativa a Stati Uniti, Canada e Australia è sensibilmente più scarsa rispetto a quella inglese. Negli Stati Uniti, in particolare, la tendenza marcata a omettere la dissezione ascellare dopo lo studio ACOSOG Z0011 del 2011 (sezione 1.2.4) ha ridotto l'interesse per OSNA e ne ha determinato una penetrazione più limitata. Nelle linee guida NCCN essa non viene citata.(71)

Le linee guida ESMO sottolineano che pN1mi è equivalente a pN0 dal punto di vista prognostico e che, pertanto, l'uso di OSNA per la valutazione routinaria del linfonodo sentinella è sconsigliato.(72) Ciononostante, in Spagna la tecnica si è diffusa notevolmente. Il Consensus della Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria (SESPM) del 2022 raccomanda l'uso della tecnica OSNA per l'analisi del linfonodo sentinella "ogni volta che sia possibile", sia per l'analisi intraoperatoria sia per l'analisi differita.(295) La letteratura sulla metodica indica che anche in Germania e Olanda essa ha avuto una diffusione importante (sezione 1.3). Tuttavia, nel caso di questi Paesi la tecnica OSNA è sconsigliata o ignorata dalle linee guida nazionali.(296,297)

Per quanto riguarda il contesto italiano, essa non viene raccomandata nelle linee guida AIOM, dove viene citata solo marginalmente come una procedura molecolare attualmente in uso in alcuni centri.(73) Invece, è ampiamente integrata nel PDTA dell'Emilia-Romagna, dove viene presentata come valida alternativa all'istologia intraoperatoria.(74)

È da segnalare che oggi l'impiego della tecnica OSNA non è più limitato al tumore della mammella. La valutazione del linfonodo sentinella con questa metodica è stata estesa anche ad altre neoplasie a espressione di citocheratina 19, tra cui i carcinomi del colon-retto, del polmone, dello stomaco e dell'utero, con buoni livelli di accuratezza diagnostica complessiva.(298)

1.3.5 VALORE PREDITTIVO DEL TOTAL TUMOR LOAD (TTL)

Un elemento interpretativo peculiare della tecnica OSNA è il Total Tumor Load (TTL), definito come la somma delle copie rilevate in tutti i linfonodi sentinella positivi di una paziente. Esso è stato indagato ampiamente come fattore predittivo della presenza di metastasi nei linfonodi ascellari non-sentinella (NSLN), con lo scopo di affiancare il risultato del singolo linfonodo sentinella nella stratificazione del rischio e di ridurre le dissezioni ascellari non necessarie. A differenza della classificazione istologica, che è intrinsecamente categorica e soggetta a variabilità di campionamento, il TTL fornisce una misura continua e oggettiva del carico tumorale dell'intero linfonodo, che potenzialmente è più informativa rispetto alla semplice dicotomia tra micro- e macrometastasi.

La maggior parte degli studi per la validazione del valore predittivo del TTL presenta un disegno retrospettivo. Essi identificano una popolazione di pazienti operate per tumore della mammella e sottoposte a biopsia del linfonodo sentinella, di cui una parte è andata a completamento mediante dissezione ascellare. Dopodiché, viene valutato quanto il Total Tumor Load correlava con lo stadio pN definitivo nelle pazienti dissecate.

Peg et al., in uno studio multicentrico del 2013 su 697 pazienti, hanno dimostrato che il TTL era un fattore predittivo indipendente, anche dopo aggiustamento per cT e numero di linfonodi sentinella positivi.(299) Su questi fattori sono stati sviluppati diversi strumenti statistici. Rubio et al. (2014), Teramoto et al. (2014), Nabais et al. (2017), Shimazu et al. (2018), Sa-nguanraksa et al. (2019), hanno tutti validato dei nomogrammi che presentavano una buona capacità predittiva per la presenza di metastasi a carico dei NSLN (AUC rispettivamente di 0,76; 0,70; 0,81; 0,70; 0,79).(300–304)

Numerosi studi hanno tentato di definire anche soglie predittive semplici di TTL, piuttosto che modelli compositi. Nel 2013 lo studio di Espinosa-Bravo et al., su 306 pazienti, ha osservato che un TTL < 120.000 copie/μL si associava a un valore predittivo negativo dell'80%.(305) Nel 2017 lo studio di Fung et al., su 700 pazienti, ha mostrato che un TTL < 5.000 copie/μL si associava a un valore predittivo negativo del 97,5% per la presenza di macrometastasi in 2 o più linfonodi, ovvero per l'indicazione ACOSOG Z0011 alla dissezione ascellare (sezione 1.2.4).(306)

Un ulteriore filone di ricerca ha proposto la revisione della soglia di positività per le macrometastasi, ritenuta troppo sensibile e responsabile di un numero eccessivo di dissezioni ascellari. Nel 2014 lo studio di Deambrogio et al., su 1080 pazienti, ha proposto una soglia di 7.700 copie/μL.(307) Nel 2020 lo studio di Fougo et al., su 2.164 pazienti, ha proposto una soglia di 30.000 copie/μL.(308) Nel 2022 lo studio di Tomasicchio et al., su 1.339 pazienti, ha proposto una soglia di 9.150 copie/μL.(309)

Come evidente, i modelli basati sul TTL che sono stati proposti per la stratificazione del rischio sono molto numerosi e suggeriscono una marcata eterogeneità degli studi, riconducibile a differenze nelle popolazioni studiate e nei metodi statistici adottati, nonché all'uso prevalente di indagini di tipo retrospettivo. Ciò limita la generalizzabilità dei risultati.

1.3.6 VALORE PROGNOSTICO DEL TOTAL TUMOR LOAD (TTL): RESEARCH GAP E OBIETTIVI DELLO STUDIO

Accanto alla ricerca sul valore predittivo del TTL per lo stato dei NSLN, volto alla gestione diretta dell'ascella, negli anni è emersa anche una ricerca sul valore prognostico dello stesso per gli eventi oncologici a lungo termine, volta alla personalizzazione della terapia adiuvante.

Il contributo più rilevante a tal proposito sono gli studi del gruppo di Osako. In un primo studio del 2017 su una casistica di 1.039 pazienti, gli autori hanno proposto una classificazione dello

stadio pN di tipo molecolare, denominata pN(mol) e fondata su una soglia TTL di 2.810 copie/ μ L. La sopravvivenza libera da malattia a distanza a 5 anni è risultata significativamente superiore nelle pazienti classificate come pN1mi(mol), con TTL < 2.810 copie/ μ L, rispetto a quelle classificate come pN1(mol), con TTL > 2.810 copie/ μ L (98,8% vs 87,7%). Questo dato ha dimostrato per la prima volta che il TTL possiede un valore prognostico autonomo.(310) Tale evidenza è stata successivamente rafforzata da uno studio del 2022, multicentrico e condotto su 4.757 pazienti. Gli autori hanno identificato una soglia TTL indipendente di 1.100 copie/ μ L, integrandola poi in un modello prognostico assieme ad età, stadio pT, grado e tipologia di terapia adiuvante. Questo modello si è rivelato essere molto potente per la stima del rischio di recidiva a distanza a 5 anni, raggiungendo un AUC di 0,83. L'ampiezza della casistica e la robustezza del modello collocano questo lavoro tra le evidenze più solide a sostegno del valore prognostico del TTL.(311)

Dall'analisi della letteratura emerge che la tecnica OSNA risulta ampiamente validata sul piano dell'accuratezza diagnostica e del valore predittivo del TTL, mentre le evidenze relative al valore prognostico restano ancora limitate, necessitando di conferme su coorti indipendenti e con adeguata durata del follow-up. Su queste premesse si fonda il presente studio. I risultati potranno contribuire al dibattito su una stratificazione prognostica più accurata e sull'ottimizzazione delle terapie adiuvanti nel tumore della mammella in fase precoce.

2. MATERIALI E METODI

2.1 DISEGNO DELLO STUDIO E OBIETTIVI

È stato condotto uno studio osservazionale retrospettivo monocentrico non interventistico su una coorte consecutiva di pazienti affette da tumore della mammella in fase precoce, sottoposte a intervento chirurgico con biopsia del linfonodo sentinella mediante tecnica One-Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) nel biennio 2018-2019, presso la Struttura Complessa di Chirurgia Oncologica Senologica dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria (AOU) di Modena, sede Policlinico.

I dati sulla coorte sono stati raccolti retrospettivamente consultando la documentazione clinica elettronica conservata nei sistemi informativi aziendali. Le variabili terapeutiche e i dati di follow-up oncologico, comprese le informazioni relative allo stato in vita, sono stati recuperati dalle cartelle cliniche elettroniche del sistema COMNET del Centro Oncologico Modenese (COM), AOU di Modena, sede Policlinico. Le caratteristiche istopatologiche, la stadiazione patologica e la quantificazione OSNA sono state recuperate dai referti elettronici della Struttura Complessa di Anatomia e Istologia Patologica del medesimo centro. I dati raccolti sono stati trattati in forma anonima e organizzati in un database in formato .xlsx, in cui ciascuna paziente è definita esclusivamente mediante i codici identificativi dell'intervento chirurgico e del referto OSNA.

L'obiettivo primario dello studio è la valutazione della correlazione tra la quantificazione OSNA del linfonodo sentinella e gli esiti oncologici a lungo termine, espressi come sopravvivenza globale (Overall Survival, OS) e sopravvivenza libera da malattia (Disease Free Survival, DFS). Tale correlazione è stata analizzata sia secondo il modello OSNA standard a tre livelli (negativo, micrometastasi, macrometastasi), sia secondo un modello dicotomico a due livelli (negativo vs positivo), sia secondo soglie di Total Tumor Load (TTL) proposte in letteratura, sia secondo soglie esplorative di Total Tumor Load identificate sulla presente casistica. Obiettivi secondari sono stati la descrizione delle caratteristiche clinico-patologiche e dei pattern di trattamento della coorte, la valutazione dell'associazione tra TTL e parametri di stadiazione (pT e pN), il confronto della capacità discriminante prognostica dei diversi modelli di categorizzazione del linfonodo sentinella.

2.2 POPOLAZIONE DELLO STUDIO E CRITERI DI SELEZIONE

Sono state incluse nello studio tutte le pazienti che soddisfacevano i seguenti criteri: diagnosi di carcinoma mammario invasivo o carcinoma duttale in situ, confermata dall'analisi istologica sul pezzo operatorio; stadiazione preoperatoria dell'ascella negativa (cN0); assenza di metastasi a distanza alla diagnosi (M0); assenza di trattamento chemioterapico neoadiuvante; intervento chirurgico con biopsia del linfonodo sentinella eseguito presso la Struttura Complessa di Chirurgia Oncologica Senologica del Policlinico di Modena nel corso degli anni 2018 e 2019; biopsia del linfonodo sentinella analizzata mediante tecnica OSNA. Sono state

conseguentemente escluse le pazienti con malattia metastatica a distanza alla diagnosi (M1), con stadiazione preoperatoria dell'ascella positiva (cN+) o sottoposte a chemioterapia neoadiuvante.

Oltre ai criteri sopra elencati, alcuni casi sono stati rimossi dall'elenco di pazienti consecutive fornito dalla Chirurgia Senologica per motivi tecnici o documentali. Sono state escluse 6 pazienti il cui linfonodo sentinella era stato analizzato con esame estemporaneo tradizionale al congelatore per indisponibilità temporanea del macchinario; 1 paziente per cui l'analisi era stata eseguita in parte con tecnica OSNA e in parte al congelatore, poiché uno dei linfonodi pesava meno del valore soglia permesso dallo strumento; 1 paziente per la quale il referto riportava unicamente la classe di risultato e non il numero di copie/ μ L; 1 paziente con diagnosi definitiva di neoplasia benigna sul pezzo operatorio; 1 paziente cN+ all'ecografia ascellare preoperatoria, che non era stata sottoposta ad analisi OSNA e pertanto era stata inclusa nella popolazione erroneamente; 7 pazienti che avevano proseguito le cure fuori Regione immediatamente dopo l'intervento, senza possibilità di follow-up per recidive o stato in vita; 10 pazienti per le quali non è stato possibile recuperare i dati dall'intranet ospedaliera.

Le pazienti sottoposte a intervento chirurgico bilaterale (n = 9) sono state consolidate in un'unica osservazione, allo scopo di evitare la duplicazione del soggetto e di mantenere la coerenza dell'unità di analisi. Il lato selezionato è stato individuato secondo un criterio gerarchico: è stato mantenuto il lato con il linfonodo sentinella a maggiore positività; a parità di stato del linfonodo sentinella, il lato con la componente invasiva rispetto a quella in situ; a parità di invasività, il lato con categoria pT o grado istologico più elevato; in caso di completa concordanza di tutti i parametri istopatologici, il lato destro.

Al termine di questo processo di selezione, la coorte di studio è risultata composta da 362 casi.

2.3 DEFINIZIONE DEGLI ENDPOINT E DELLE COORTI DI ANALISI

La sopravvivenza globale (Overall Survival, OS) è stata definita come l'intervallo di tempo intercorso tra la data dell'intervento chirurgico e la data del decesso per qualsiasi causa. Per l'analisi della OS sono state escluse 3 pazienti che avevano proseguito le cure fuori regione, per le quali risultava affidabile il solo dato relativo alla recidiva e non quello relativo allo stato in vita. La coorte per l'analisi della sopravvivenza globale è risultata composta pertanto da 359 pazienti.

La sopravvivenza libera da malattia (Disease Free Survival, DFS) è stata definita come l'intervallo di tempo intercorso tra la data dell'intervento chirurgico e il primo evento, considerato come la prima recidiva loco-regionale, la prima recidiva a distanza o il decesso per qualsiasi causa. I secondi tumori primitivi controlaterali non sono stati conteggiati come eventi. Per l'analisi della DFS sono state escluse 67 pazienti che avevano proseguito il follow-up presso Strutture Complesse di Oncologia del territorio provinciale, per le quali risultava affidabile il

solo dato relativo allo stato in vita. La coorte per l'analisi della sopravvivenza libera da malattia è risultata pertanto composta da 295 pazienti.

2.3 DATI RACCOLTI

Per ciascuna paziente inclusa nello studio sono state valutate le seguenti variabili, raccolte in un database in formato .xlsx.

I dati anagrafici comprendono identificativo numerico dell'intervento chirurgico, identificativo numerico del referto OSNA, data di nascita, sesso, data dell'intervento chirurgico.

I dati relativi al trattamento comprendono tipo di chirurgia della mammella (quadrantectomia; mastectomia), esecuzione di dissezione ascellare, esecuzione di radioterapia adiuvante, terapia adiuvante sistemica (inibitori dell'aromatasi; tamoxifene; agonisti del recettore GnRH; inibitori delle CDK4/6; terapia anti-HER2; chemioterapia).

Le caratteristiche istopatologiche valutate sul pezzo operatorio comprendono diagnosi principale (carcinoma invasivo; carcinoma in situ), istotipo (carcinoma duttale NST; carcinoma lobulare; carcinoma misto; carcinomi di tipo speciale), grado istologico secondo il sistema di Nottingham per i carcinomi invasivi (G1; G2; G3), grado istologico secondo il sistema di Holland per i carcinomi in situ (basso; intermedio; alto).

La stadiazione patologica è stata eseguita secondo l'8ª edizione della classificazione AJCC-UICC, comprende stadio pT (pTis, carcinoma in situ; pT1a, >1 mm e ≤5 mm; pT1b, >5 mm e ≤10 mm; pT1c, >10 mm e ≤20 mm; pT2, >20 mm e ≤50 mm; pT3, >50 mm; pT4, qualsiasi dimensione con estensione alla parete toracica o alla cute in forma di ulcerazione, noduli satellite o edema) e stadio pN nelle pazienti sottoposte a dissezione ascellare (pN1mi, micrometastasi >0,2 mm e ≤2 mm; pN1, metastasi in 1-3 linfonodi ascellari; pN2, metastasi in 4-9 linfonodi ascellari; pN3, metastasi in ≥10 linfonodi ascellari).

I dati di follow-up oncologico possono includere eventualmente comparsa di recidiva locoregionale linfonodale, comparsa di recidiva locoregionale mammaria, data di comparsa della recidiva locoregionale, comparsa di recidiva a distanza, data di comparsa della recidiva a distanza, tipo di chirurgia della recidiva, terapia sistemica della recidiva.

Le variabili relative allo stato in vita possono includere eventualmente decesso, data del decesso.

La quantificazione OSNA è stata registrata sia come categorie OSNA standard (negativo, <250 copie/μL; positivo per micrometastasi, 250-5000 copie/μL; positivo per macrometastasi, >5000 copie/μL), sia come Total Tumor Load (somma di copie/μL rilevate in tutti i linfonodi sentinella positivi di una paziente).

2.4 ANALISI STATISTICA

Le variabili categoriche sono state descritte mediante frequenze assolute e relative, mentre le variabili continue sono state descritte mediante media e deviazione standard oppure mediana e intervallo interquartile (IQR), in funzione della distribuzione osservata. Data la marcata asimmetria del Total Tumor Load, questa variabile è stata sintetizzata mediante mediana e IQR; dove necessario per le analisi di associazione e di regressione, è stata trasformata in scala logaritmica.

Non è stata effettuata imputazione dei dati mancanti.

L'associazione tra il Total Tumor Load e i parametri di stadiazione (stadio pT e stadio pN) è stata valutata mediante il coefficiente di correlazione per ranghi di Spearman (ρ).

Le funzioni di sopravvivenza per la OS e per la DFS sono state stimate con il metodo di Kaplan-Meier e i tassi di sopravvivenza sono stati riportati a 5 e a 7 anni. Il confronto tra le curve di sopravvivenza dei diversi sottogruppi è stato effettuato mediante test log-rank. L'analisi è stata condotta confrontando le pazienti secondo il modello OSNA standard a tre livelli, secondo il modello dicotomico a due livelli (negativo vs positivo), secondo i cut-off prognostici di Total Tumor Load proposti in letteratura, secondo cut-off esplorativi identificati sulla presente casistica.

Per l'identificazione dei cut-off esplorativi è stato adottato un approccio basato su statistiche di rango a selezione massimale. È stata selezionata, separatamente per la OS e per la DFS, la soglia di Total Tumor Load corrispondente al massimo valore di χ^2 , ovvero la soglia che determinava il più alto punteggio di separazione tra le curve di sopravvivenza delle pazienti al di sopra e al di sotto della soglia. Tale procedura comporta la verifica simultanea di molteplici soglie candidate e compromette il valore di significatività nominale del test, che è applicabile solamente per un singolo confronto prespecificato (soglia $\chi^2 = 3,84$ corrispondente a $p = 0,05$). Pertanto, la significatività statistica dei cut-off ottimali è stata valutata mediante un test di permutazione, basato su 500 permutazioni casuali dei dati. Le permutazioni, in cui per costruzione il Total Tumor Load è privo di valore prognostico, hanno consentito di stimare la distribuzione nulla del χ^2 massimo e di derivare un valore di significatività permutazionale corretto per la molteplicità dei confronti.

La capacità discriminante dei diversi modelli di categorizzazione del linfonodo sentinella con tecnica OSNA è stata confrontata mediante l'Indice di Concordanza (C-index). Esso esprime la probabilità che, presa casualmente una coppia di pazienti, il modello attribuisca il rischio di evento più elevato alla paziente che effettivamente sperimenta l'evento per prima.

L'associazione tra le variabili clinico-patologiche e gli esiti oncologici è stata indagata mediante modelli di regressione di Cox a rischi proporzionali, con stima degli Hazard Ratio (HR) e dei relativi intervalli di confidenza al 95% (IC 95%), nonché calcolo della significatività mediante test di Wald. È stata condotta un'analisi univariata sui principali fattori prognostici (età modellizzata per intervalli di 10 anni, categoria pT, grado istologico, stato OSNA e Total Tumor

Load in scala logaritmica) e un'analisi multivariata parsimoniosa comprendente lo stato OSNA, l'età e la categoria pT. L'assunto dei rischi proporzionali, su cui si fondano i modelli di Cox, è stato verificato mediante il test basato sui residui di Schoenfeld.

Il livello di significatività statistica è stato fissato a $p < 0,05$. Tutte le elaborazioni descrittive, le stime di sopravvivenza, i test di associazione, le procedure di permutazione e i modelli di regressione sono stati condotti applicando i metodi statistici sopra descritti, implementati mediante strumenti di calcolo statistico computazionale.

3. RISULTATI

3.1 STATISTICA DESCRITTIVA DELLA POPOLAZIONE DI STUDIO

3.1.1 CARATTERISTICHE ANAGRAFICHE

La coorte comprende 362 pazienti operate fra il 2018 e il 2019, quasi esclusivamente di sesso femminile (360 donne, 99,4%; 2 uomini, 0,6%).

L'età alla diagnosi presenta una distribuzione sostanzialmente simmetrica, con valore medio di 60,9 anni (deviazione standard 12,5) e mediana di 61,3 anni (range interquartile 50,5-71,3; intervallo complessivo 25-86 anni). La ripartizione per fasce d'età mostra una popolazione prevalentemente post-menopausale: circa metà della popolazione (53,3%) ha almeno 60 anni al momento della diagnosi, quota che sale a circa tre quarti della popolazione se si considerano le pazienti con almeno 50 anni (75,7%). Il nucleo più numeroso sono le pazienti con 70 anni o più, che rappresentano quasi un terzo della popolazione (28,7%). Le pazienti giovani, di età inferiore ai 40 anni, costituiscono una quota marginale (4,4%). Tale profilo anagrafico è coerente con l'epidemiologia del carcinoma mammario (Tabella 1).

Tabella 1. Distribuzione dell'età alla diagnosi, anni (N = 362).

Età	n	%
Media (DS)	60,9 (12,5)	—
Mediana (IQR)	61,3 (50,5–71,3)	
Intervallo	25–86	—
< 40	16	4,4
40–49	72	19,9
50–59	81	22,4
60–69	89	24,6
≥ 70	104	28,7

3.1.2 CARATTERISTICHE DELLE TERAPIE LOCOREGIONALI E SISTEMICHE

Il trattamento chirurgico è stato conservativo nel 74,6% dei casi (n = 270) e demolitivo (mastectomia) nel 25,4% (n = 92).

La dissezione ascellare è stata eseguita in 61 pazienti (16,9%). Come già trattato nella sezione 1.2.4, questa procedura è riservata solitamente ai casi con linfonodo sentinella positivo per macrometastasi, e così è stato anche per questa casistica (60 dissezioni su 61 con linfonodo OSNA positivo per macrometastasi).

La radioterapia adiuvante è stata somministrata al 78,2% delle pazienti (Tabella 2).

Tabella 2. Caratteristiche del trattamento locoregionale (N = 362).

Trattamento locoregionale	n	%
Chirurgia conservativa	270	74,6
Mastectomia	92	25,4
Dissezione ascellare eseguita	61	16,9
Radioterapia adiuvante eseguita	283	78,2

Il trattamento adiuvante sistemico è noto per 361 delle 362 pazienti. Si tratta prevalentemente di regimi unimodali, mentre i regimi multimodali sono stati somministrati solamente a circa un quinto delle pazienti (n = 77, 21,3%).

La terapia endocrina rappresenta il cardine del trattamento per la maggior parte della coorte ed è stata somministrata nell'86,7% della casistica (n = 314). In particolare, gli inibitori dell'aromatasi sono stati impiegati in 248 pazienti, il tamoxifene in 73, l'analogo del GnRH per la soppressione ovarica in 55. Complessivamente, 249 pazienti (68,8%) hanno ricevuto la sola terapia endocrina, mentre 47 pazienti (13%) hanno ricevuto la terapia endocrina in associazione alla chemioterapia.

La terapia anti-HER2 è stata somministrata in 29 pazienti (8,0%), quasi sempre in associazione alla chemioterapia (28 casi su 29).

La chemioterapia è stata erogata in 90 pazienti (24,9%), quasi sempre in combinazione con la terapia endocrina o con la terapia anti-HER2. Solo 15 pazienti (4,1%) hanno ricevuto la chemioterapia in trattamento unimodale.

Gli inibitori delle CDK4/6 sono stati somministrati in terapia adiuvante in 4 casi (1,1%), sempre in associazione alla terapia endocrina.

Infine, 20 pazienti (5,5%) non hanno effettuato alcuna terapia adiuvante, per scelta personale o perché l'istologia del tumore nel caso specifico non la richiedeva (tumore in situ, istotipo speciale a buona prognosi, ecc.). 1 paziente (0,3%) si è presentata con malattia metastatica alla stadiazione post-operatoria e quindi ha intrapreso fin da subito terapie mirate per stadio M1. Per 1 paziente (0,3%) il dato della terapia adiuvante non era disponibile (Tabelle 3 e 4).

Tabella 3. Categorie di terapia adiuvante (categorie non mutuamente esclusive; N = 362).

Modalità di trattamento	n	%
Terapia endocrina	314	86,7
– inibitori dell'aromatasi	248	68,5
– tamoxifene	73	20,2
– analogo GnRH (soppressione ovarica)	55	15,2
Chemioterapia	90	24,9
Terapia anti-HER2	29	8,0

Inibitori CDK4/6	4	1,1
------------------	---	-----

Tabella 4. Schemi terapeutici combinati (categorie mutuamente esclusive; N = 362).

Schemi terapeutici	n	%
Sola terapia endocrina	249	68,8
Chemioterapia + terapia endocrina	47	13,0
Anti-HER2 ± chemioterapia ± terapia endocrina	29	8,0
Sola chemioterapia	15	4,1
Nessuna terapia adiuvante, M1 all'esordio, dato non disponibile	22	6,1

3.1.3 CARATTERISTICHE ISTOPATOLOGICHE

Sul piano istopatologico, la quasi totalità dei casi è rappresentata da carcinomi invasivi (98,1%), mentre i carcinomi in situ costituiscono una quota marginale (1,9%).

L'istotipo prevalente è il duttale di tipo non altrimenti specificato (72,7%), seguito al lobulare (19,9%).

La maggioranza dei tumori invasivi presenta grado istologico intermedio (G2, 73,5%), con il 18,2% di forme scarsamente differenziate (G3).

La distribuzione per categoria pT mostra una netta prevalenza di neoplasie in stadio iniziale: il 68,2% è pT1 e il 27,9% pT2. All'interno della categoria pT1, la distribuzione per sottocategoria dimensionale evidenzia una netta predominanza dei tumori pT1c (178 casi, 49,2%), seguiti dai tumori pT1b (60 casi, 16,6%) e dai tumori pT1a (9 casi, 2,5%); nella casistica non sono presenti carcinomi microinvasivi pT1mi. Le neoplasie pT1c rappresentano quindi, da sole, circa la metà dell'intera coorte (Tabella 5).

Tabella 5. Caratteristiche istopatologiche (N = 362).

Diagnosi	n	%
Carcinoma invasivo	355	98,1
Carcinoma in situ	7	1,9
Istotipo	n	%
Istotipo duttale NST	263	72,7
Istotipo lobulare	72	19,9
Altri istotipi	27	7,5
Grado	n	%
Grado G1	23	6,4
Grado G2	266	73,5

Grado G3	66	18,2
pT	n	%
pTis	7	1,9
pT1	247	68,2
– pT1a	9	2,5
– pT1b	60	16,6
– pT1c	178	49,2
pT2	101	27,9
pT3–pT4	7	1,9

Il parametro pN è stato misurabile esclusivamente nelle 61 pazienti sottoposte a dissezione ascellare, ovvero nel 16,9% della coorte. All'interno del sottogruppo disseccato, prevale nettamente la categoria pN1 (46 casi, 75,4%), seguita da pN2 (10 casi, 16,4%) e pN3 (4 casi, 6,6%); è inoltre presente un singolo caso pN1mi (Tabella 6). Nelle restanti 301 pazienti, la dissezione non è stata eseguita e pertanto il dato pN non è disponibile.

Tabella 6. Stato linfonodale patologico (pN) nel sottogruppo sottoposto a dissezione ascellare (n = 61).

pN	n	%
pN1mi	1	1,6
pN1	46	75,4
pN2	10	16,4
pN3	4	6,6

3.1.2 QUANTIFICAZIONE OSNA DEL LINFONODO SENTINELLA

Il linfonodo sentinella è risultato negativo nel 68,8% delle pazienti (n = 249), positivo per micrometastasi nel 14,6% (n = 53) e positivo per macrometastasi nel 16,6% (n = 60); complessivamente il 31,2% della coorte presenta un linfonodo sentinella positivo (Tabella 7).

Tabella 7. Risultato del linfonodo sentinella secondo OSNA (N = 362).

Classe OSNA	n	%
Negativo	249	68,8
Micrometastasi	53	14,6
Macrometastasi	60	16,6
Positivo (micrometastasi + macrometastasi)	113	31,2

Il Total Tumor Load (TTL) presenta nell'intera coorte una mediana pari a 0 copie/μL (IQR 0-802), valore che riflette la predominanza dei casi negativi. La variabile è fortemente

asimmetrica e si distribuisce su diversi ordini di grandezza: nelle micrometastasi il TTL mediano è di 960 copie/ μ L (IQR 410-1.980), mentre nelle macrometastasi sale a 120.000 copie/ μ L (IQR 22.050-675.000). La casistica ha registrato un valore massimo di TTL di 11.300.000 copie/ μ L (Tabella 8).

Tabella 8. Total Tumor Load mediano per coorti di classe OSNA.

Coorte	n	TTL mediano	IQR (range)
Intera popolazione	362	0	0–802
Coorte con micrometastasi	53	960	410–1.980 (250–4.740)
Coorte con macrometastasi	60	120.000	22.050–675.000 (5.600–11.300.000)

La distribuzione dello stato OSNA evidenzia un incremento della positività con l'aumentare del pT: la quota di linfonodi positivi passa dal 24% circa nei pT1 a oltre il 46% nei pT2, fino alla totalità dei pochi casi pT3–pT4 (Tabella 9).

Tale correlazione è statisticamente significativa e molto potente, ma presenta una bassa intensità a causa della ampia variabilità della popolazione di studio (test di Spearman: $p < 0,001$, $\rho = 0,31$).

Tabella 9. Stato OSNA per categoria pT.

pT	Negativo	Micrometastasi	Macrometastasi	OSNA positivo (%)
Tis	7	0	0	0,0%
T1	188	35	24	23,9%
T2	54	14	33	46,5%
T3–T4	0	4	3	100,0%

Limitando l'analisi alle 60 pazienti con macrometastasi OSNA, tutte sottoposte successivamente a dissezione ascellare, il TTL mostra una associazione diretta con lo stadio pN: il valore mediano del TTL cresce progressivamente passando da pN1 (92.500 copie/ μ L), a pN2 (148.500 copie/ μ L), fino a pN3 (1.520.000 copie/ μ L).

Anche in questo caso, la correlazione tra il logaritmo del TTL e lo stadio pN è statisticamente significativa, indicando che un carico molecolare più elevato nel linfonodo sentinella tende ad accompagnarsi a un maggior numero di linfonodi metastatici nella dissezione ascellare. Anche in questo caso, tuttavia, l'intensità della correlazione è di entità moderata (test di Spearman: $p = 0,011$, $\rho = 0,33$) (Tabella 10).

Tabella 10. Total Tumor Load mediano per coorti di stadio pN, nelle coorti sottoposte a dissezione ascellare ($n = 60$).

pN	n	TTL mediano, copie/ μ L	IQR (range), copie/ μ L
----	---	-----------------------------	-----------------------------

pN1	46	92.500	13.650–342.500 (5.600–11.300.000)
pN2	10	148.500	85.250–1.007.500 (12.000–7.340.000)
pN3	4	1.520.000	1.150.000–2.344.775 (550.000–4.309.100)

3.1.4 EVENTI E FOLLOW-UP

Con un follow-up mediano di circa 7 anni (88,3 mesi, IQR 81,6-95,9) si sono verificati 44 decessi (12,2%) e 29 recidive (8,0%), distinte in 3 recidive linfonodali, 6 recidive mammarie omolaterali e 20 recidive a distanza (Tabella 11). Combinando recidiva e morte come eventi della sopravvivenza libera da malattia, si contano complessivamente 60 eventi DFS (16,6%).

Tabella 11. Categorie di eventi DFS, follow-up mediano 88,3 mesi (IQR 81,6-95,9) (N = 362).

Esito	n	%
Decesso (qualsiasi causa)	44	12,2
Recidiva (qualsiasi sede)	29	8,0
– linfonodale	3	0,8
– mammaria omolaterale	6	1,7
– a distanza (M1)	20	5,5
Evento DFS (recidiva o morte)	60	16,6

3.2 ANALISI DEI TASSI DI SOPRAVVIVENZA SECONDO LO STATO OSNA

3.2.1 TASSI DI SOPRAVVIVENZA SECONDO IL MODELLO OSNA STANDARD A TRE LIVELLI

Le curve di Kaplan-Meier mostrano un gradiente prognostico coerente con lo stato del linfonodo sentinella, sia per la sopravvivenza globale sia per la sopravvivenza libera da malattia. A cinque anni, la sopravvivenza globale è stimata al 96,0% nelle pazienti OSNA-negative, al 92,2% nelle micrometastasi e all'88,3% nelle macrometastasi; per la DFS le stime corrispondenti sono 89,8%, 83,0% e 76,6%.

Tuttavia, va segnalato che il confronto complessivo fra i tre gruppi con test log-rank non raggiunge la significatività statistica convenzionale (OS: $p = 0,083$; DFS: $p = 0,164$), risultato atteso data la scarsa numerosità di eventi nei sottogruppi micro e macro (Tabella 12).

Tabella 12. Tassi di sopravvivenza a 5 anni per stato OSNA e significatività statistica (test log-rank).

Endpoint	Negativo	Micrometastasi	Macrometastasi	log-rank p
OS a 5 anni	96,0%	92,2%	88,3%	0,083
DFS a 5 anni	89,8%	83,0%	76,6%	0,164

La separazione progressiva delle curve, con le macrometastasi costantemente al di sotto della popolazione OSNA-negativo, suggerisce un effetto dose-dipendente del carico metastatico linfonodale (Figure 1 e 2).

Figura 1. Curve di Kaplan-Meier della sopravvivenza globale (OS) secondo lo stato OSNA (negativo, micrometastasi, macrometastasi); coorte $n = 359$, log-rank a 3 gruppi $p = 0,083$.

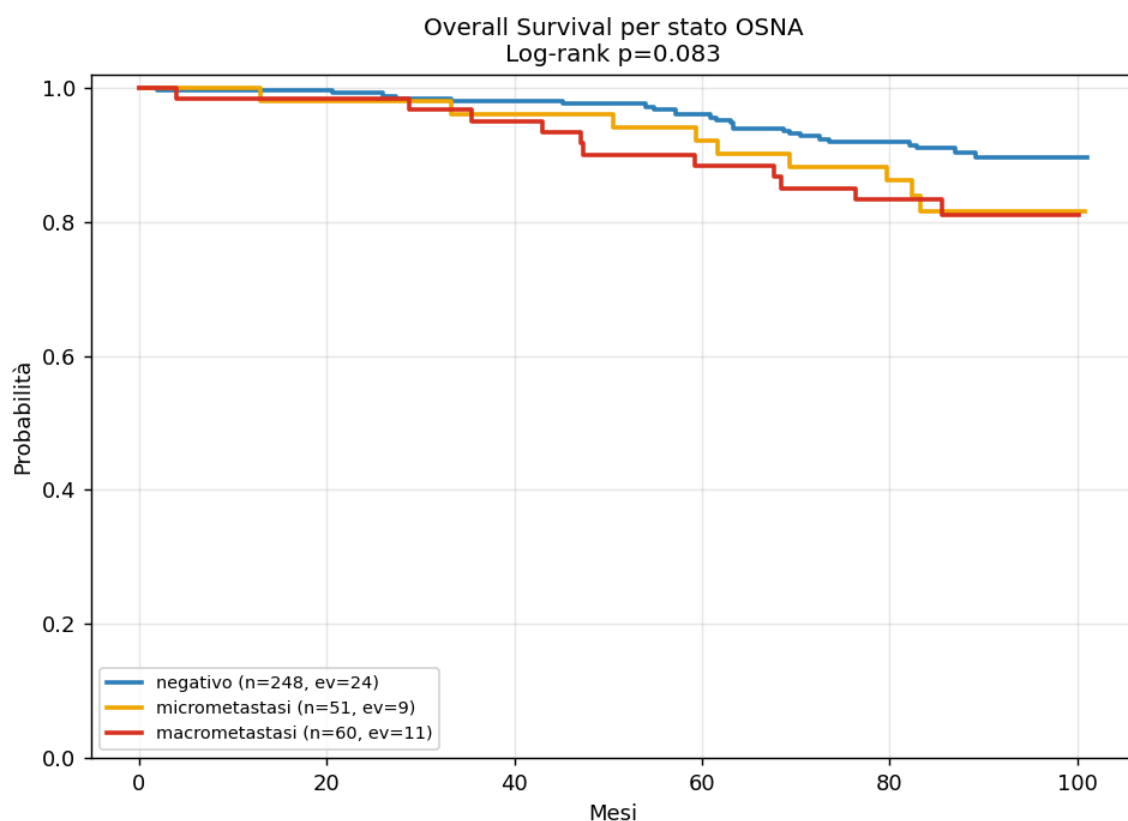
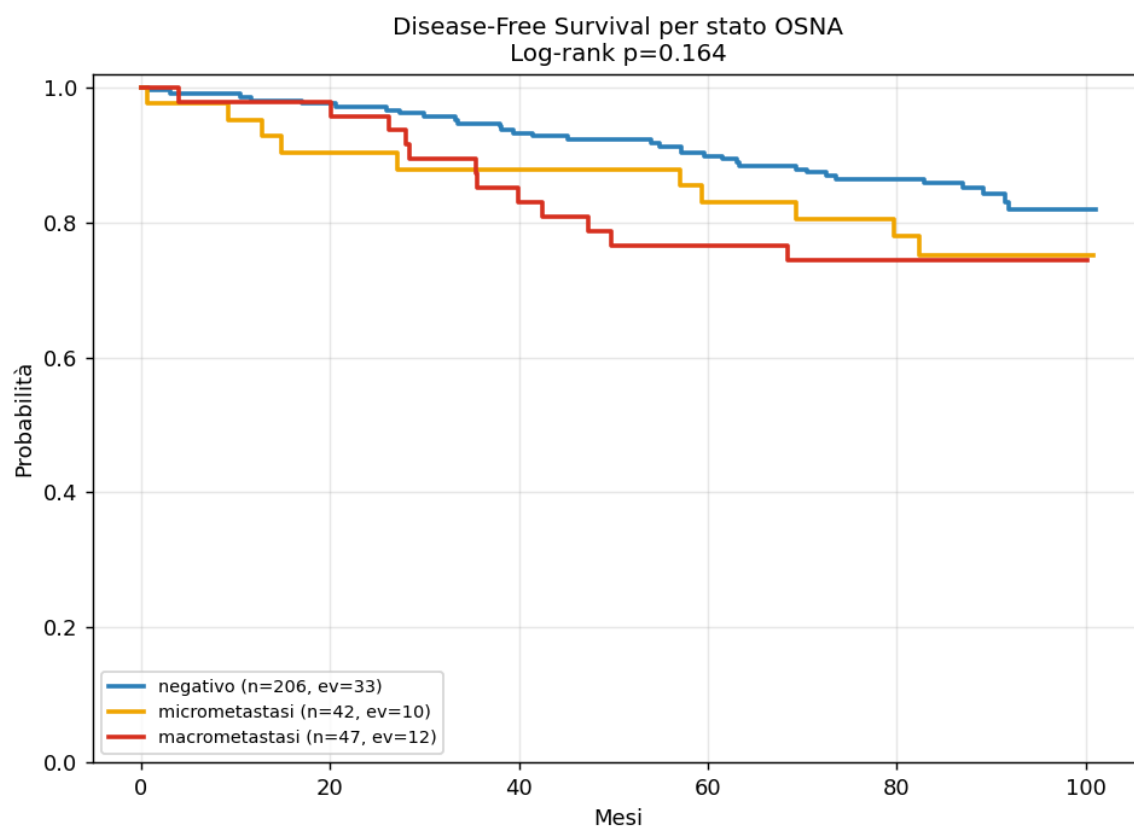


Figura 2. Curve di Kaplan-Meier della sopravvivenza libera da malattia (DFS) secondo lo stato OSNA; coorte $n = 295$, log-rank a 3 gruppi $p = 0,164$.



3.2.2 TASSI DI SOPRAVVIVENZA SECONDO IL MODELLO OSNA A DUE LIVELLI: NEGATIVO E POSITIVO (MICROMETASTASI CON MACROMETASTASI)

Accorpendo le pazienti positive (micrometastasi e macrometastasi) in un unico gruppo e confrontandole con le negative, la differenza di sopravvivenza diventa statisticamente significativa per la sopravvivenza globale ($p = 0,026$) e si colloca al limite della significatività per la sopravvivenza libera da malattia ($p = 0,059$).

Data la significatività statistica e dato il follow-up mediano di 88 mesi, è informativo riportare sia le stime a 5 anni sia le stime a 7 anni. A 5 anni la sopravvivenza globale è del 96,0% nelle pazienti OSNA-negative e del 90,1% nelle positive; a 7 anni il divario si amplia, scendendo al 91,0% nelle negative e all'82,5% nelle positive. Lo scarto assoluto, quindi, passa da circa 6 a 8,5 punti percentuali. Per la sopravvivenza libera da malattia la separazione è ancora più marcata: 89,8% vs 79,6% a 5 anni e 85,8% vs 74,8% a 7 anni, con uno scarto assoluto che passa da circa 10 a 11 punti percentuali (Tabella 13).

Tabella 13. Tassi di sopravvivenza a 5 e a 7 anni per OSNA negativo o positivo (micrometastasi + macrometastasi) e significatività statistica (test log-rank).

OS	Negativo	Positivo	Δ di punti % tra le coorti	log-rank p
a 5 anni	96,0%	90,1%	5,9	0,026
a 7 anni	91,0%	82,5%	8,5	
DFS				
a 5 anni	89,8%	79,6%	10,2	0,059
a 7 anni	85,8%	74,8%	11	

Le curve di Kaplan-Meier dei due gruppi divergono precocemente e si mantengono separate per tutta la durata del follow-up, con un divario che per la DFS appare ancora più marcato di quello per la OS, suggerendo che l'impatto del coinvolgimento linfonodale si manifesti anzitutto sul rischio di ripresa di malattia (Figure 3 e 4).

Questo risultato individua il principale discriminatore prognostico della casistica nel passaggio da linfonodo sentinella negativo a positivo, piuttosto che nella graduazione interna fra micro- e macrometastasi.

Figura 3. Curve di Kaplan-Meier della sopravvivenza globale (OS) per OSNA negativo vs positivo (micrometastasi + macrometastasi); coorte $n = 359$, log-rank $p = 0,026$.

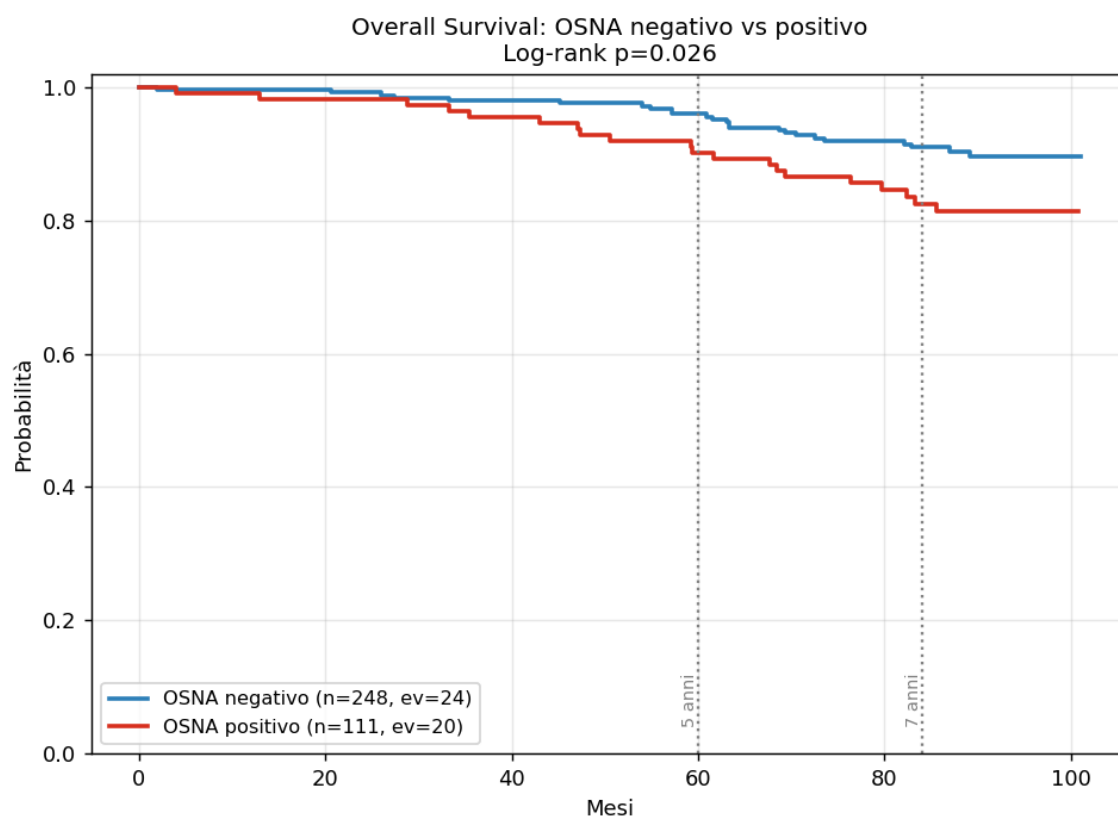
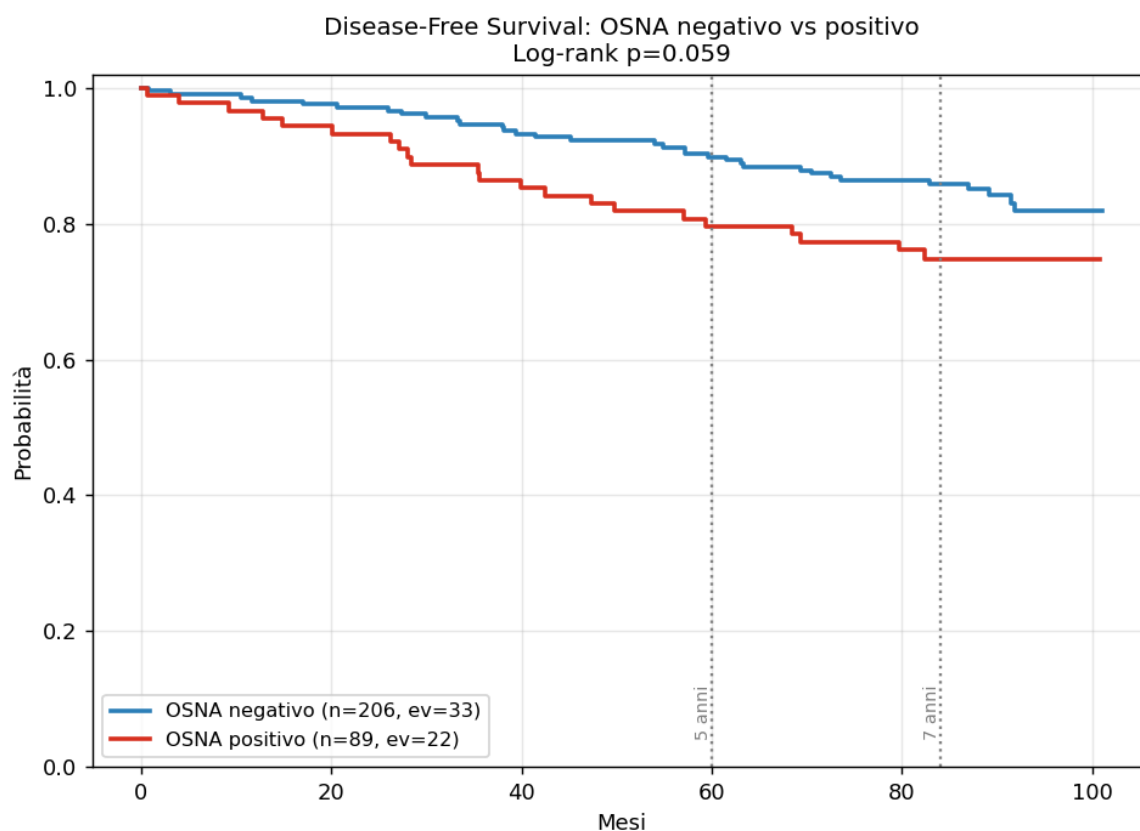


Figura 4. Curve di Kaplan-Meier della sopravvivenza libera da malattia (DFS) per OSNA negativo vs positivo (micrometastasi + macrometastasi); coorte $n = 295$, log-rank $p = 0,059$.



3.2.3 TASSI DI SOPRAVVIVENZA SECONDO I CUT-OFF DI TOTAL TUMOR LOAD PROPOSTI IN LETTERATURA

Oltre ai cut-off ottimali, sono stati valutati anche i due cut-off di Total Tumor Load con valore prognostico del gruppo di Osako, dettagliati nella sezione 1.3.6: la soglia di 2.810 copie/ μ L, alla base della classificazione molecolare pN(mol), e la soglia di 1.100 copie/ μ L, componente del modello prognostico per la stima della sopravvivenza libera da malattia a distanza.(310,311) Applicando entrambi i cut-off alla presente popolazione di studio, la direzione dell'effetto è risultata concorde con l'ipotesi prognostica in tutti i confronti, con una sopravvivenza costantemente inferiore nelle pazienti al di sopra della soglia.

Per il cut-off di 1.100 copie/ μ L, la sopravvivenza globale a cinque anni è scesa dal 95,7% al 89,1%, sfiorando la significatività statistica ($p = 0,054$); la sopravvivenza libera da malattia è passata dall'89,1% al 78,2% ($p = 0,121$).

Per il cut-off di 2.810 copie/ μ L, la sopravvivenza globale a cinque anni è scesa dal 95,2% al 89,9% ($p = 0,137$); la sopravvivenza libera da malattia è passata da 88,8% a 77,4% ($p = 0,182$).

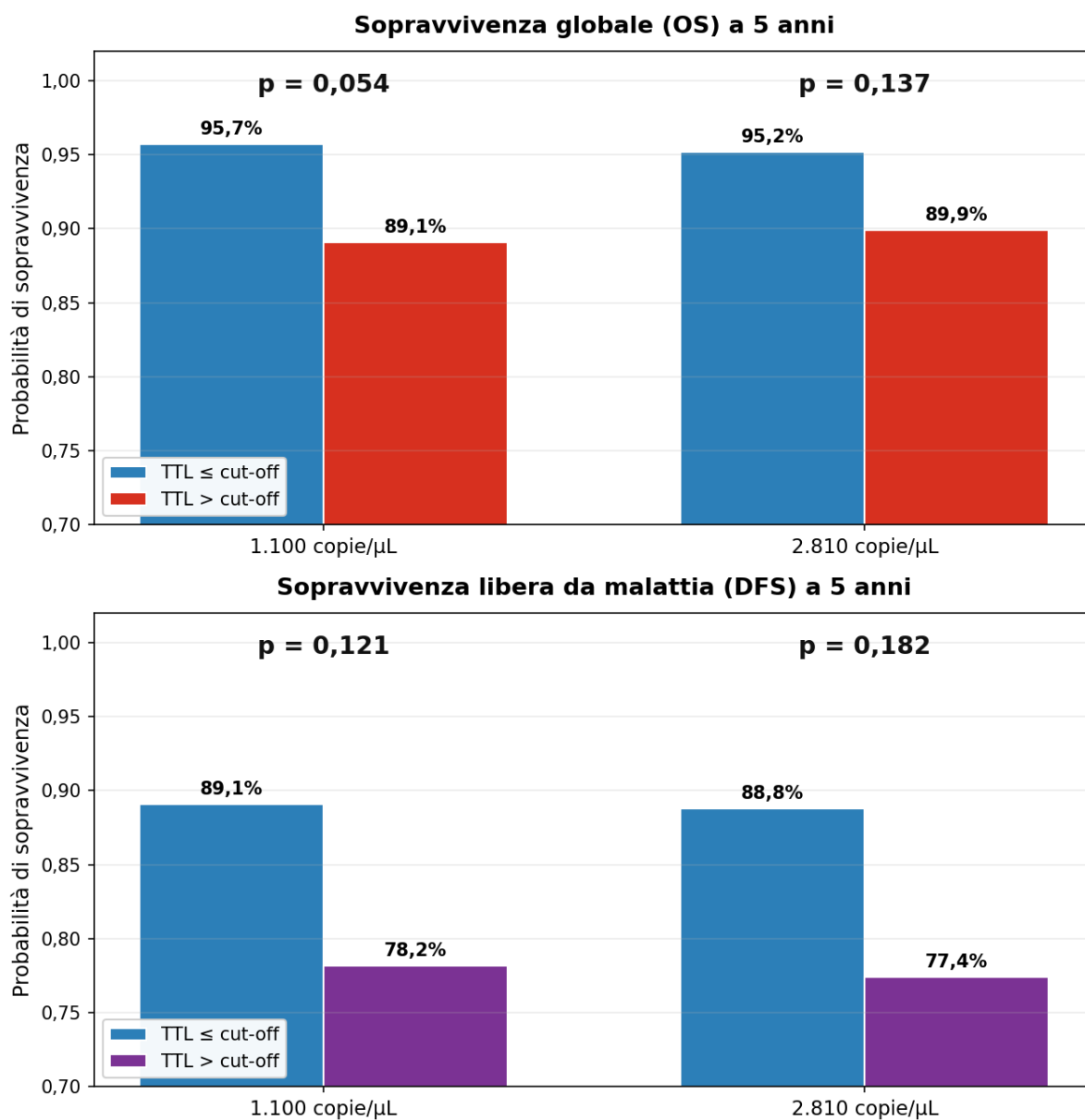
Queste soglie sono definite a priori da studi esterni, quindi anche in questo caso il p value nominale è sufficiente per effettuare la valutazione statistica. Tuttavia, per entrambi i cut-off gli scarti sono risultati modesti e quindi non si sono dimostrati significativi, pur in presenza di un gradiente coerente (Tabella 14 e Figura 5).

Tabella 14. Tassi di sopravvivenza a 5 anni secondo i cut-off prognostici di Osako e significatività statistica (test log-rank).

OS a 5 anni	$\leq$ cut-off	$>$ cut-off	log-rank p
1.100 copie/ μ L	95,7%	89,1%	0,054
2.810 copie/ μ L	95,2%	89,9%	0,137
DFS a 5 anni			
1.100 copie/ μ L	89,1%	78,2%	0,121
2.810 copie/ μ L	88,8%	77,4%	0,182

Figura 5. Tassi di sopravvivenza per OS (in alto) e per DFS (in basso) secondo i cut-off prognostici di Osako e rispettivi log-rank p.

Tassi di sopravvivenza a 5 anni secondo i cut-off di Total Tumor Load di Osako



3.2.4 TASSI DI SOPRAVVIVENZA SECONDO DIVERSI CUT-OFF ESPLORATIVI DI TOTAL TUMOR LOAD

Individuazione dei cut-off ottimali

Infine, è stata condotta un'analisi esplorativa per verificare se un nuovo cut-off del numero di copie di CK19 (Total Tumor Load) potesse stratificare la prognosi meglio dei cut-off a 250 e a 5.000 copie/ μ L, cioè quelli per la classificazione standard in negativo, micrometastasi e macrometastasi.

Per entrambi gli endpoint è stato individuato, tramite statistiche di rango a selezione massimale, il valore di Total Tumor Load che massimizzava la separazione delle curve di sopravvivenza. Per la sopravvivenza globale il cut-off ottimale è stato identificato a 1.465 copie/ μ L (78 pazienti al di sopra della soglia, 15 eventi); per la sopravvivenza libera da malattia il cut-off ottimale è stato identificato a 130.414 copie/ μ L (19 pazienti al di sopra della soglia, 7 eventi).

In Figura 6, la linea tratteggiata verticale indica il cut-off ottimale di TTL che corrisponde al massimo valore di χ^2 , ovvero il cut-off di TTL che determina il più alto punteggio di separazione fra le curve di sopravvivenza delle popolazioni al di sopra e al di sotto del cut-off. La linea tratteggiata orizzontale corrisponde a $\chi^2 = 3,84$, una costante uguale per qualsiasi studio fra due gruppi che produca un χ^2 con 1 grado di libertà (trattati vs placebo, con evento vs senza evento, ecc.); essa corrisponde alla soglia dei χ^2 statisticamente significativi ($p = 0,05$). Il profilo della statistica di rango a selezione massimale mostra in entrambi i cut-off ottimali un picco che raggiungerebbe la soglia di significatività (OS: $\chi^2 = 4,67$, $p = 0,031$; DFS: $\chi^2 = 5,48$, $p = 0,019$).

Teoricamente, applicando questi cut-off ottimali, le curve di sopravvivenza di Kaplan-Meier risulterebbero separate in modo molto più distinto, sia rispetto alle curve di sopravvivenza secondo le categorie OSNA convenzionali, sia rispetto alle curve di sopravvivenza secondo OSNA positivo vs negativo (Figura 7).

Figura 6. Statistica log-rank (χ^2) in funzione del cut-off di Total Tumor Load, per la sopravvivenza globale (in alto) e per la sopravvivenza libera da malattia (in basso).

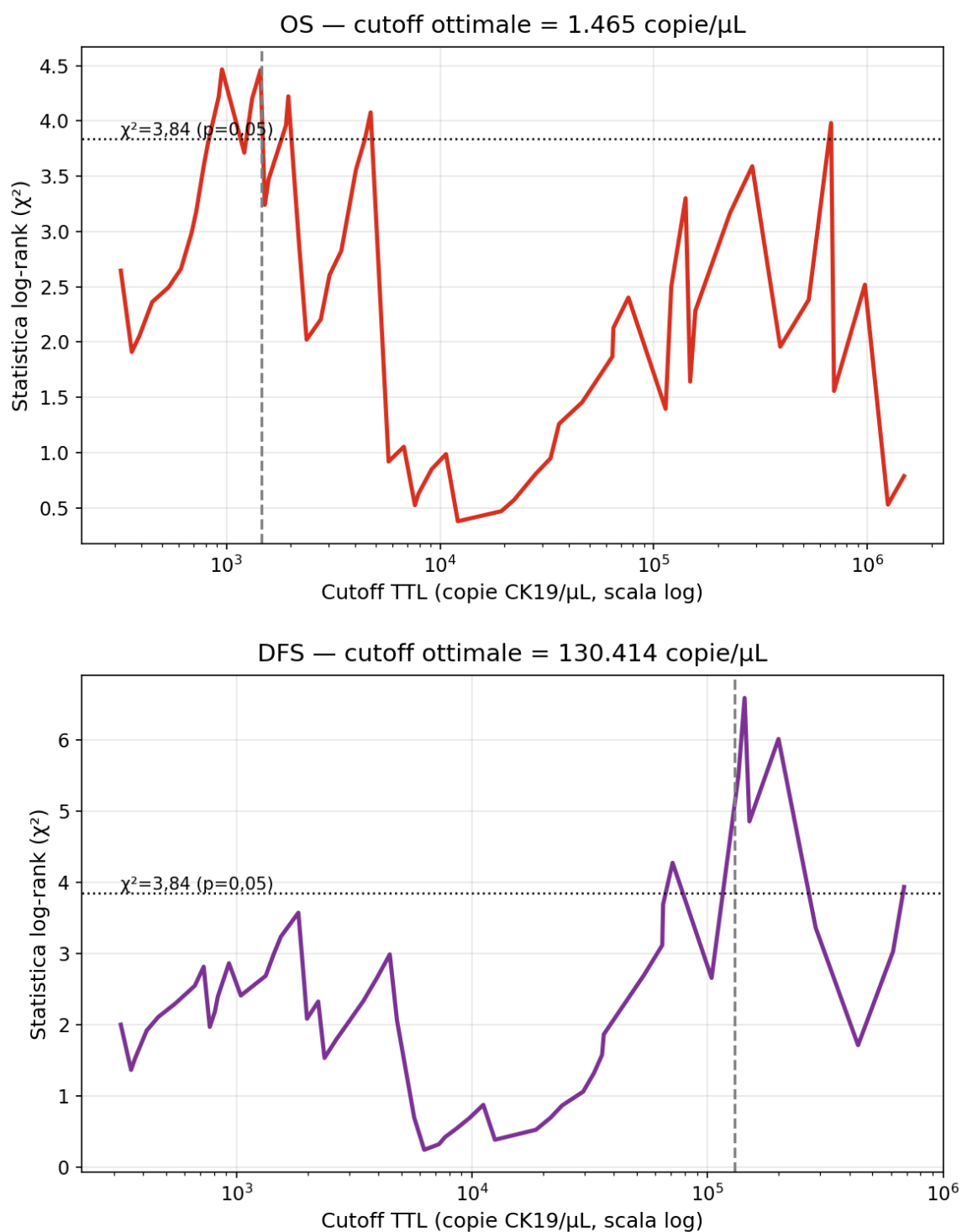
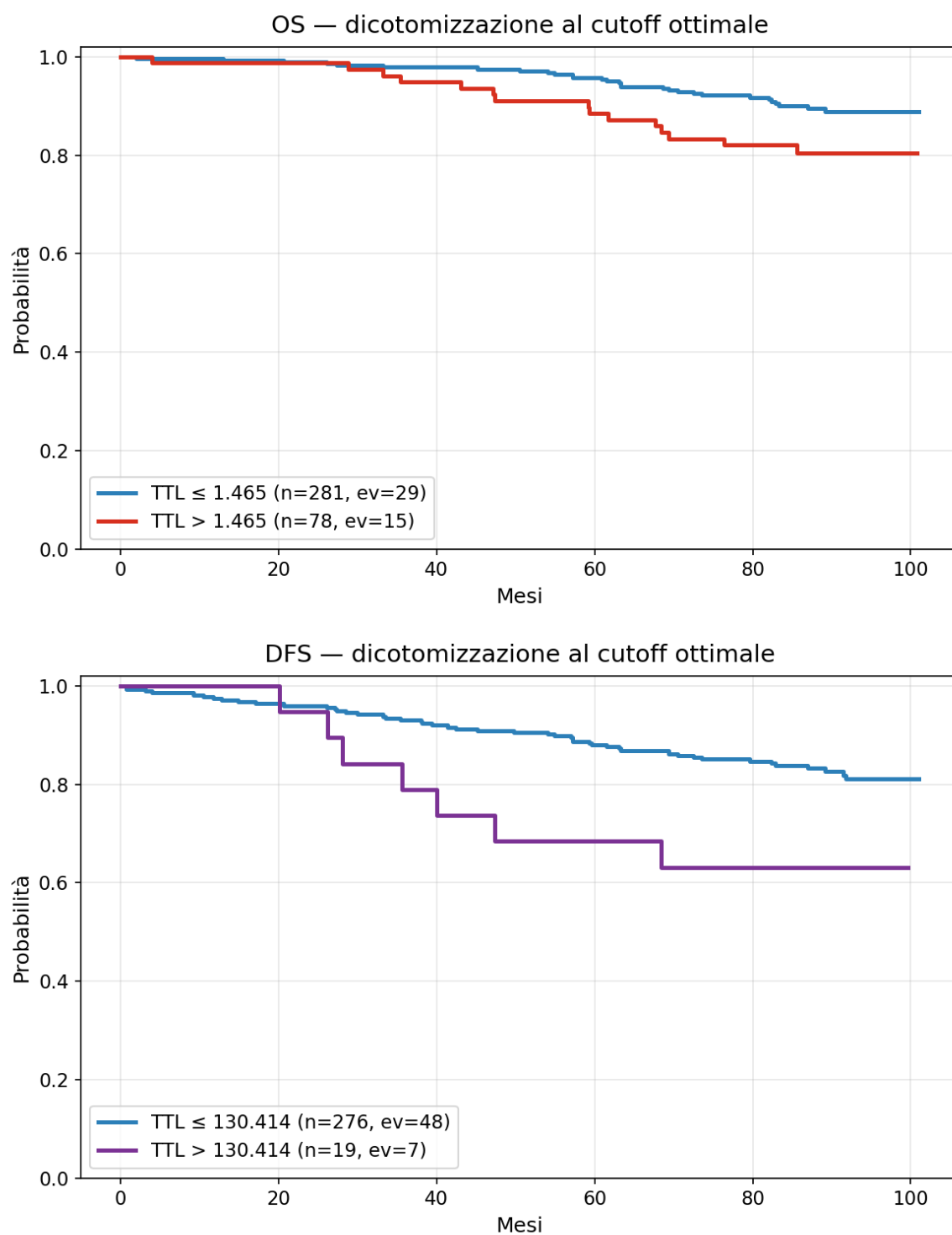


Figura 7. Curve di Kaplan-Meier dicotomizzate al cut-off ottimale di Total Tumor Load, per la sopravvivenza globale (in alto, soglia 1.465 copie/ μ L) e per la sopravvivenza libera da malattia (in basso, soglia 130.414 copie/ μ L).



Valutazione della significatività statistica dei cut-off ottimali

Tuttavia, in questo caso non è stato eseguito un singolo confronto di cut-off prespecificato, condizione necessaria per la validità della soglia $\chi^2 = 3,84$ con significatività nominale $p = 0,05$. Bensì, sono stati eseguiti multipli confronti di cut-off con i rispettivi χ^2 ed è stato selezionato solo quello ottimale, in modo retrospettivo. Pertanto, la sola statistica di rango a selezione massimale non è sufficiente per escludere l'ipotesi nulla.

La significatività statistica è stata quindi valutata anche mediante un test di permutazione con 500 permutazioni casuali dei dati. Queste permutazioni costituiscono l'ipotesi nulla e in esse, per costruzione, il Total Tumor Load non ha alcun valore prognostico. Valutando i χ^2 associati ai cut-off ottimali nelle permutazioni nulle, e selezionando quelli $\geq$ ai χ^2 associati ai cut-off ottimali reali, la significatività dei cut-off ottimali reali si perde completamente. Nel caso della OS, il massimo χ^2 è risultato $\geq$ di quello reale in 81 permutazioni nulle su 500; pertanto, la sopravvivenza globale valutata secondo il cut-off di TTL ottimale si associa a un p permutazionale di 0,164. Nel caso della DFS, il massimo χ^2 è risultato $\geq$ di quello reale in 46 permutazioni nulle su 500; pertanto, la sopravvivenza libera da malattia valutata secondo il cut-off di TTL ottimale si associa a un p permutazionale di 0,094 (Tabella 15).

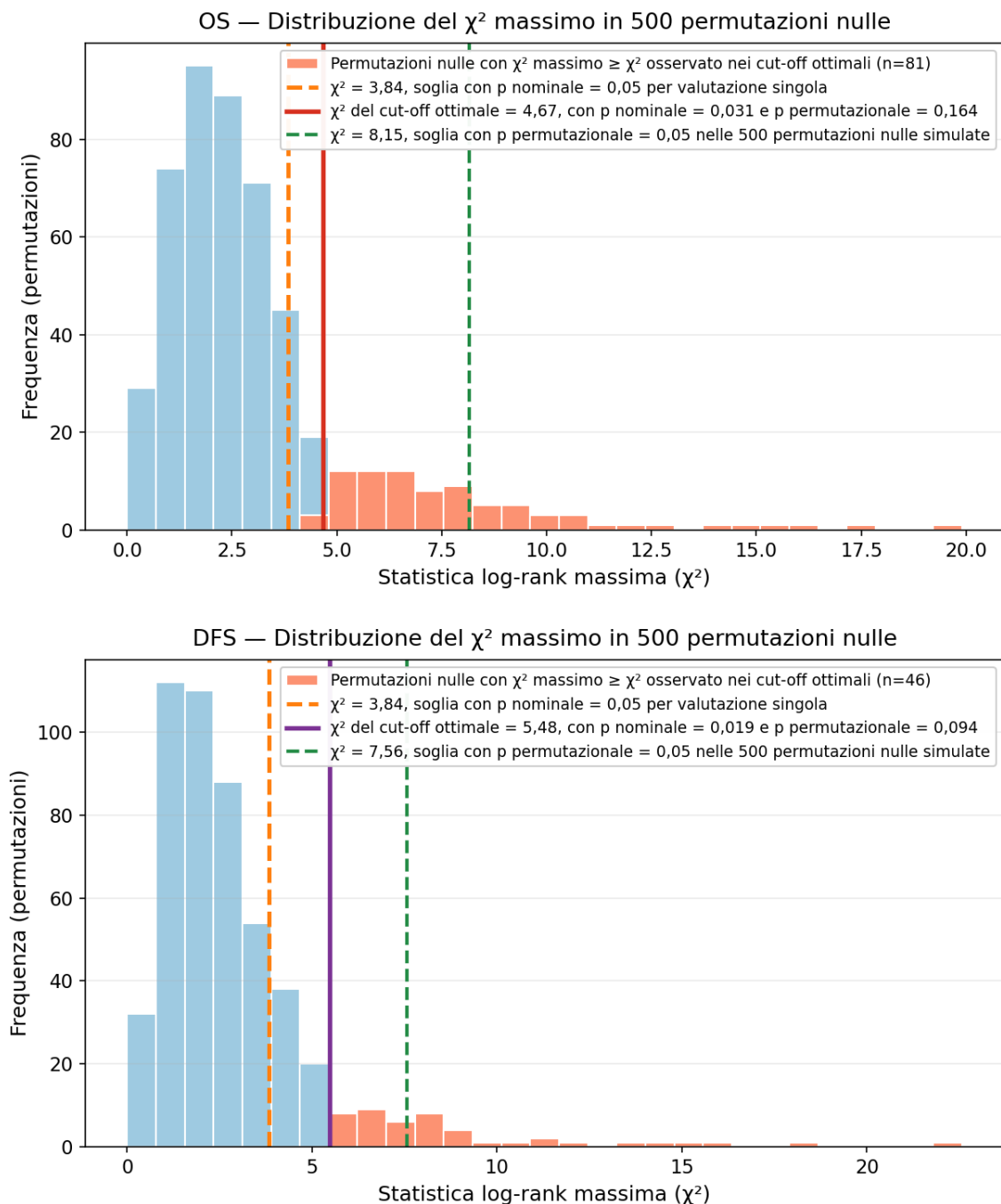
Tabella 15. Significatività statistica per OS e DFS dei modelli con cut-off ottimali, con OSNA standard a 3 livelli e con OSNA a 2 livelli, sia nominale sia permutazionale per le 500 permutazioni generate.

Modello per OS	cut-off, copie/ μ L	p nominale	p permutazionale
Cut-off ottimale	1.465	0,031	0,164
OSNA standard a 3 livelli	250 – 5.000	0,083	–
OSNA a 2 livelli	250	0,026	–
Modello per DFS			
Cut-off ottimale	130.414	0,019	0,094
OSNA standard a 3 livelli	250 – 5.000	0,164	–
OSNA a 2 livelli	250	0,059	–

La Figura 8 esplicita questa differenza statistica. Gli istogrammi mostrano la distribuzione del χ^2 massimo nelle 500 permutazioni nulle. Il χ^2 associato ai cut-off ottimali reali supera la soglia di significatività statistica nominale (linea tratteggiata: $\chi^2 = 3,84$ con p nominale = 0,05; linea rossa in OS: $\chi^2 = 4,67$ con p nominale = 0,031; linea viola in DFS: $\chi^2 = 5,48$ con p nominale = 0,019). Tuttavia, la distribuzione del χ^2 massimo nelle permutazioni nulle è spostata ben oltre la soglia di significatività nominale e racchiude interamente il χ^2 associato ai cut-off ottimali reali. Una quota rilevante delle permutazioni nulle raggiunge per puro rumore statistico un χ^2 massimo maggiore o uguale a quello associato ai cut-off ottimali reali (colonne rosse). La linea verde tratteggiata indica il χ^2 con p permutazionale = 0,05, cioè il valore di χ^2 con significatività statistica che lascerebbe a destra solo il 5% delle permutazioni nulle (OS: $\chi^2 = 8,15$; DFS: $\chi^2 = 7,56$): tale linea è posta molto più a destra del valore di χ^2 associato ai cut-off ottimali reali.

Secondo queste valutazioni, i picchi osservati in Figura 5 sono determinati molto probabilmente dal rumore statistico, piuttosto che da un reale fenomeno biologico sottostante.

Figura 8. Distribuzione del χ^2 massimo in 500 permutazioni nulle per OS (in alto) e per DFS (in basso), confrontata con il χ^2 del cut-off ottimale, il χ^2 con p nominale = 0,05, il χ^2 con p permutazionale = 0,05 nelle 500 permutazioni simulate.



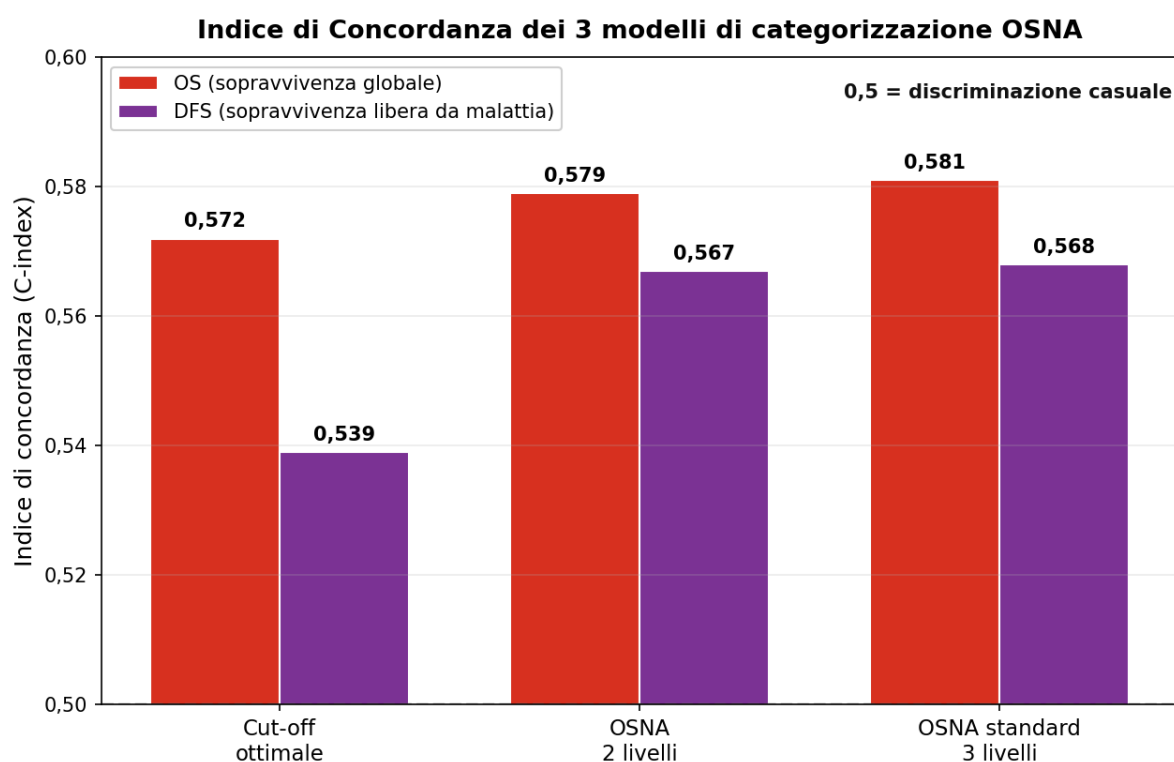
Indice di concordanza dei 4 modelli rispetto alla popolazione di studio

Il confronto formale tra i modelli di categorizzazione conferma questa lettura. Valutando i modelli basati sui cut-off ottimali mediante l'indice di concordanza (C-index), questi non offrono alcun vantaggio in termini di capacità discriminante.

Prendendo una coppia di pazienti in modo casuale, sia il modello OSNA standard a 3 livelli che il modello OSNA a 2 livelli (negativo vs positivo) riescono ad attribuire il rischio più alto di evento alla paziente corretta con una concordanza superiore rispetto al modello basato sui cut-off ottimali, sia per la sopravvivenza globale sia per la sopravvivenza libera da malattia.

Il C-index del modello con cut-off ottimali è 0,572 per OS e 0,539 per DFS. Il C-index del modello OSNA a 2 livelli è 0,579 per OS e 0,567 per DFS. Il C-index del modello OSNA standard a 3 livelli è 0,581 per OS e 0,568 per DFS (Figura 9).

Figura 9. Confronto C-index dei modelli per OS e DFS: cut-off ottimale, OSNA a 2 livelli, OSNA standard a 3 livelli.



In sintesi, i dati di questa casistica non supportano l'adozione di un cut-off di copie CK19 alternativo a quello validato. Il dato è coerente con l'impianto generale di questa sezione 3.2, in cui l'informazione prognostica robusta resta concentrata nella distinzione tra linfonodo sentinella negativo e positivo.

3.3 REGRESSIONI DI COX SECONDO IL MODELLO OSNA A 2 LIVELLI

3.3.1 ANALISI UNIVARIATA

All'analisi univariata di Cox, i fattori prognostici clinico-patologici classici confermano il loro peso. Sia l'età, modellizzata per intervalli di 10 anni, sia uno stadio patologico $T \geq 2$ sono fortemente associati ad un aumento di più del doppio del rischio di mortalità nei tassi di sopravvivenza globale (età OS: HR 2,02, $p = 0,001$; $pT \geq 2$ OS: HR 2,56, $p = 0,002$). Entrambi i fattori sono fortemente associati anche ad un aumento di circa il 50% del rischio di mortalità o recidiva nei tassi di sopravvivenza libera da malattia (età DFS: HR 1,42, $p = 0,003$; stadio $pT \geq 2$ DFS: HR 1,75, $p = 0,04$).

Il linfonodo sentinella OSNA positivo si associa in modo molto robusto a un rischio di morte quasi raddoppiato (HR 1,94; $p = 0,029$), e a un incremento del rischio di recidiva o morte di oltre il 60% al limite della significatività (HR 1,67; $p = 0,062$).

Il Total Tumor Load modellato come variabile continua su scala logaritmica mostra un effetto significativo per la OS e al limite della significatività per la DFS, ma in entrambi i casi si tratta di un aumento del rischio molto debole (OS: HR 1,14, $p = 0,043$; DFS: HR 1,12, $p = 0,061$).

Un dato interessante è che sia il linfonodo sentinella OSNA positivo sia il logaritmo del TTL hanno mostrato un aumento del rischio e una significatività statistica maggiore di quelle date dal grado istologico G3. Esso è un fattore prognostico patologico classico, che nella popolazione di studio non mostra alcun effetto (OS: HR 0,99, $p=0,971$; DFS: HR 0,95, $p=0,874$) (Tabella 16 e Figura 10).

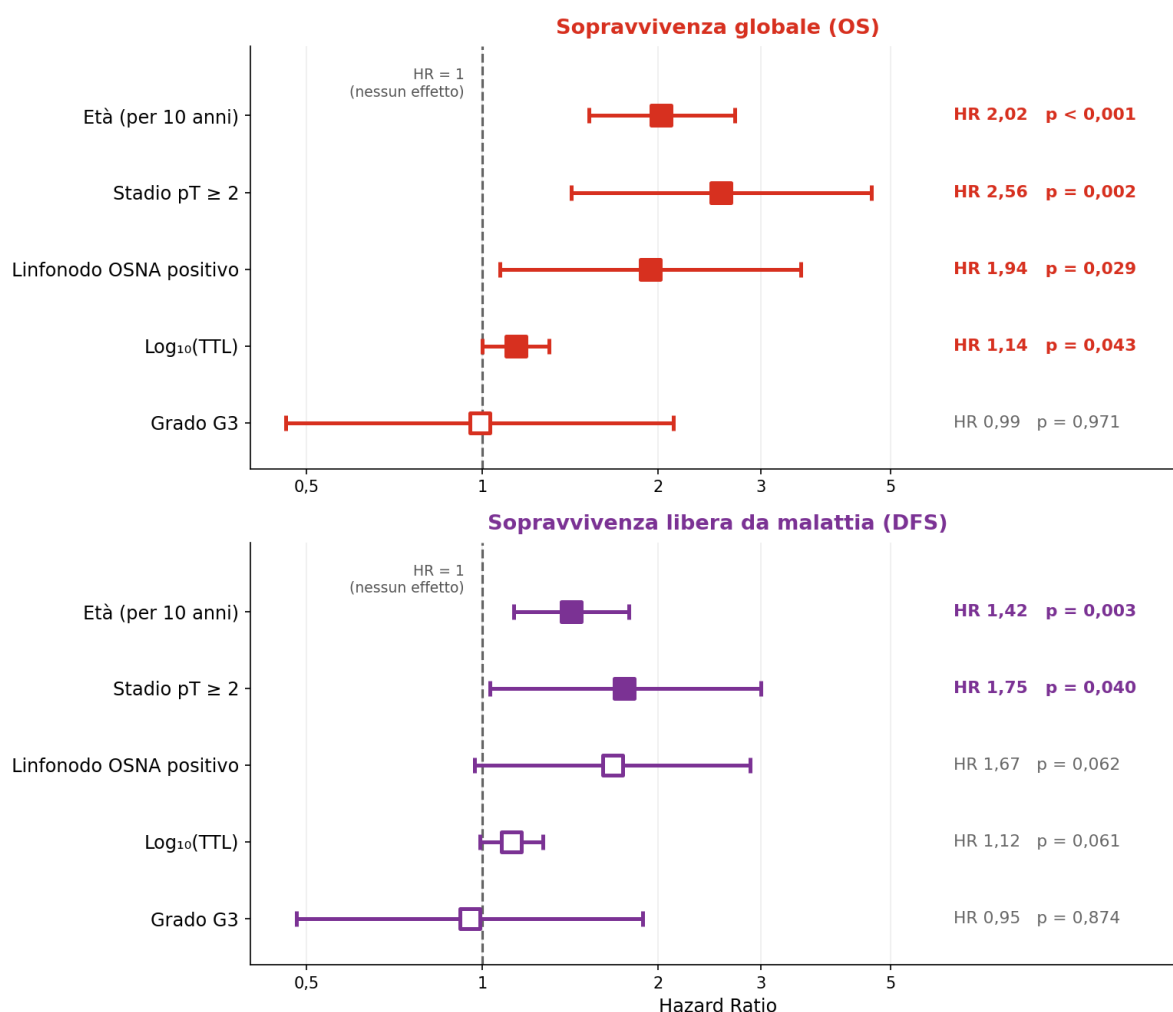
Tabella 16. Analisi univariata di Cox (Hazard Ratio con Intervallo di Confidenza al 95%) secondo età, pT , stato OSNA, TTL e grado su OS e DFS, ciascuno con i relativi valori p di Wald.

Fattore prognostico	OS – HR [IC 95%]	OS – p di Wald	DFS – HR [IC 95%]	DFS – p di Wald
Età (per 10 anni)	2,02 [1,52–2,70]	<0,001	1,42 [1,13–1,78]	0,003
Stadio $pT \geq 2$	2,56 [1,42–4,63]	0,002	1,75 [1,03–3,00]	0,040
Linfonodo OSNA positivo	1,94 [1,07–3,51]	0,029	1,67 [0,97–2,87]	0,062
$\text{Log}_{10}(\text{TTL})$	1,14 [1,00–1,30]	0,043	1,12 [0,99–1,27]	0,061
Grado G3	0,99 [0,46–2,12]	0,971	0,95 [0,48–1,88]	0,874

L'Hazard Ratio non è valutabile per lo stadio pN all'interno della popolazione con dissezione ascellare eseguita ($n = 60$), a causa della scarsità degli eventi in questa coorte (14 tra recidive e morti). Non sarebbe comunque confrontabile direttamente con pT e stato OSNA, che sono stati valutati invece su tutta la popolazione ($n = 362$).

Figura 10. Forest plot con l'analisi univariata di Cox (Hazard Ratio con Intervallo di Confidenza al 95%) secondo età, pT, stato OSNA, TTL e grado su OS (in alto) e DFS (in basso), ciascuno con i relativi valori p di Wald.

Analisi univariata di Cox: fattori prognostici per OS e DFS



3.3.2 ANALISI MULTIVARIATA

Una volta calcolato individualmente il valore prognostico del linfonodo sentinella con tecnica OSNA, è stata eseguita un'analisi multivariata per distinguere l'effetto sul rischio del linfonodo OSNA positivo da quello delle altre covariate.

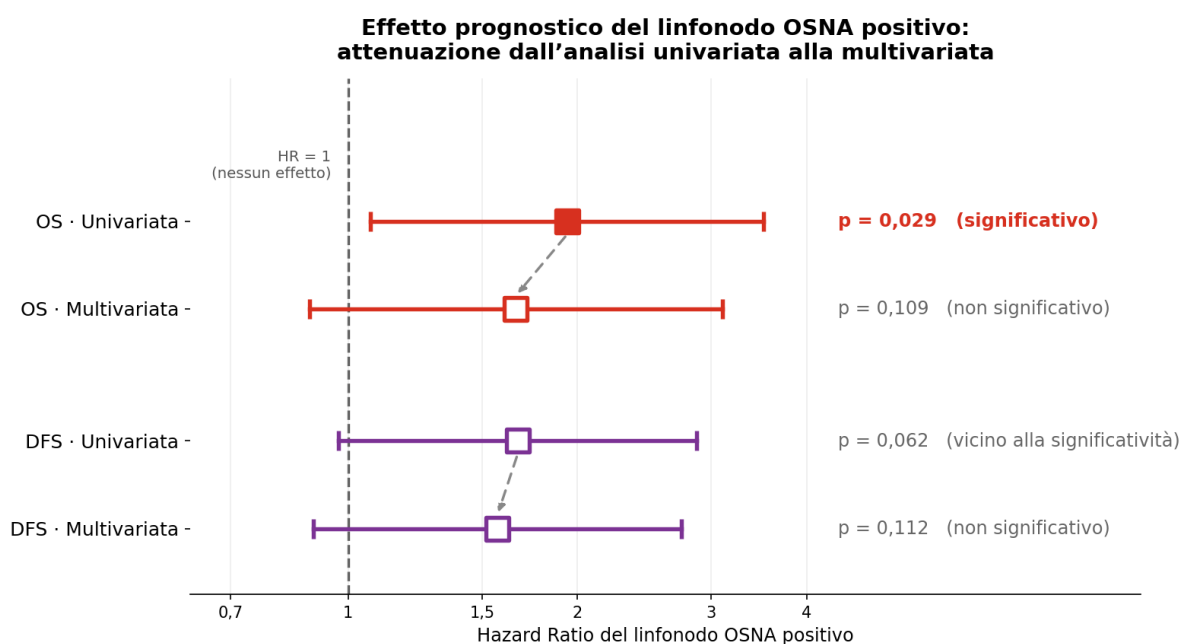
Nel calcolo della multivariata è stato escluso il TTL modellato su scala logaritmica, essendo questo completamente collineare con la positività del linfonodo OSNA e meno statisticamente potente di essa.

È stato escluso dall'analisi multivariata anche il grado istologico, perché nella popolazione di studio non presenta un effetto sul rischio e non si voleva sottrarre inutilmente gradi di libertà al modello. Infatti, bisogna ricordare che le analisi multivariate condotte su popolazioni con un numero limitato di eventi, come quella in esame, sono soggette a vincoli metodologici. La regola empirica più nota richiede almeno 10 eventi per ciascuna variabile inserita nel modello,

al fine di evitare overfitting e stime instabili. Nella presente analisi con 3 covariate tale requisito è rispettato, disponendo di 15 eventi per ciascuna variabile nel caso dell'OS, e di 20 eventi per ciascuna variabile nel caso della DFS.

L'analisi multivariata parsimoniosa ha quindi valutato stato OSNA positivo, età e $pT \geq 2$. L'impatto sul rischio dato dallo stato OSNA positivo si è attenuato e ha perso la significatività statistica: per la sopravvivenza globale HR 1,66 e $p = 0,109$, per la sopravvivenza libera da malattia HR 1,57 e $p = 0,112$. Quindi, il suo segnale prognostico è in parte spiegato dalle covariate (Figura 11).

Figura 11. Forest plot con l'analisi multivariata di Cox (Hazard Ratio con Intervallo di Confidenza al 95%) secondo lo stato OSNA su OS (in alto) e su DFS (in basso), ciascuno con i relativi valori p di Wald.



D'altra parte, anche l'effetto prognostico dello stadio pT perde significatività statistica. All'interno della popolazione di studio solamente l'effetto dell'età rimane significativo per il rischio di morte o recidiva (Tabella 17).

Tabella 17. Analisi multivariata di Cox (Hazard Ratio con Intervallo di Confidenza al 95%) secondo età, pT e stato OSNA su OS e DFS, ciascuno con i relativi valori p di Wald; indice di concordanza del modello multivariato.

Fattore prognostico	OS – HR [IC 95%]	OS – p di Wald	DFS – HR [IC 95%]	DFS – p di Wald
Età (per 10 anni)	1,90 [1,43–2,53]	<0,001	1,40 [1,11–1,76]	0,004
Stadio $pT \geq 2$	1,73 [0,92–3,27]	0,090	1,44 [0,82–2,52]	0,201
Linfonodo OSNA positivo	1,66 [0,89–3,10]	0,109	1,57 [0,90–2,74]	0,112

Gli indici di concordanza del modello multivariato così composto mostrano che esso ha una buona capacità prognostica: per OS 0,754, per DFS 0,649.

3.3.3 VERIFICA DELL'ASSUNTO DEI RISCHI PROPORZIONALI

Le regressioni di Cox si basano sull'assunto dei rischi proporzionali, cioè sul fatto che l'aumento del rischio misurato dall'Hazard Ratio sia costante in tutti gli anni di follow-up. Tale assunzione è stata verificata mediante il test dei residui di Schoenfeld ed è stata soddisfatta per tutte le covariate, sia in analisi univariata che in analisi multivariata, sia per la OS che per la DFS. In particolare, per lo stato OSNA positivo il p value del test è $\geq 0,128$ in ogni modello.

Solamente nell'analisi univariata dell'età per la sopravvivenza libera da malattia si osserva una lieve deviazione del test verso la significatività ($p = 0,038$); ovvero, in questo caso l'aumento del rischio dato dall'età non è distribuito in modo uniforme nell'arco del follow-up. Tale dato è plausibile e biologicamente compatibile con l'effetto crescente della mortalità non oncologica nelle fasce di età più avanzate (Tabella 18).

Tabella 18. Test dei residui di Schoenfeld sui fattori precedentemente esaminati con regressioni di Cox, sia per la OS sia per la DFS.

Fattore prognostico	OS univariata	DFS univariata	OS multivariata	DFS multivariata
Età (per 10 anni)	0,584	0,038	0,724	0,054
Stadio pT ≥ 2	0,298	0,563	0,439	0,418
Linfonodo OSNA positivo	0,691	0,138	0,864	0,128
Log ₁₀ (TTL)	0,526	0,160	–	–

3.4 ANALISI DI CONTROLLO DELLA COORTE CON MICROMETASTASI

Un aspetto di particolare interesse clinico riguarda il valore prognostico delle micrometastasi, che non comportano di norma l'indicazione alla dissezione ascellare: in questi casi il risultato OSNA rappresenta l'unica informazione disponibile sul carico di malattia ascellare. Anche nella presente casistica tutte le 60 pazienti con macrometastasi sono state sottoposte a dissezione ascellare, mentre delle 53 pazienti con micrometastasi solo una è stata dissecata.

Pertanto, sono stati calcolati i tassi di sopravvivenza con p value e l'Hazard Ratio per la sola coorte delle micrometastasi. L'obiettivo era valutare se le tendenze riscontrate nella coorte OSNA positivo si mantengono anche quando vengono escluse dai calcoli le pazienti con carico di malattia maggiore.

Come già mostrato nella tabella 12 e nelle Figure 1 e 2, le pazienti con micrometastasi mostrano tassi di sopravvivenza costantemente inferiori rispetto a quelle OSNA negativo e il divario con esse tende ad ampliarsi nel tempo. A 5 anni la sopravvivenza globale è del 96,0% nelle OSNA negativo e del 92,2% in quelle con micrometastasi, scendendo rispettivamente al 91,0% e all'81,6% a 7 anni. A 5 anni la sopravvivenza libera da malattia è dell'89,8% nelle OSNA negativo e dell'83,0% in quelle con micrometastasi, scendendo rispettivamente all'85,8% e al 75,2% a 7 anni. Nella regressione di Cox univariata, rispetto alle pazienti OSNA negativo, la presenza di micrometastasi determina un aumento del rischio di morte di circa l'85% (HR 1,85) e un aumento del rischio di recidiva o morte di circa il 60% (HR 1,59). Questi dati sono effettivamente molto simili a quelli visti per la coorte OSNA positivo.

È importante sottolineare che anche in questo caso tali differenze non raggiungono la significatività statistica (OS: $p = 0,109$; DFS: $p = 0,198$) e che gli intervalli di confidenza degli HR comprendono l'unità (Tabella 19).

Tabella 19. Tassi di sopravvivenza a 5 e a 7 anni secondo OSNA negativo o con micrometastasi e significatività statistica (test log-rank); analisi univariata di Cox (Hazard Ratio con Intervallo di Confidenza al 95%).

OS	Negativo	Micrometastasi	log-rank p	HR [IC 95%]
a 5 anni	96,0%	92,2%	0,109	1,85 [0,86–3,99]
a 7 anni	91,0%	81,6%		
DFS				
a 5 anni	89,8%	83,0%	0,198	1,59 [0,78–3,22]
a 7 anni	85,8%	75,2%		

4. DISCUSSIONE

4.1 PROFILO DELLA POPOLAZIONE DI STUDIO E CONSIDERAZIONI PRELIMINARI

Caratteristiche anagrafiche e terapeutiche

La popolazione esaminata è costituita da 362 pazienti operate fra il 2018 e il 2019 e presenta un profilo nettamente spostato verso le età avanzate: circa un terzo della casistica ha più di 70 anni e oltre la metà più di 60 anni. Questa composizione ha conseguenze dirette sull'interpretazione dei risultati, perché comporta un peso rilevante della mortalità non cancro-specifica e limita la validità esterna dello studio alle popolazioni più giovani, nelle quali la storia naturale della malattia e il bilancio competitivo fra le cause di morte sono differenti. Il percorso terapeutico è stato, nella grande maggioranza dei casi, quello classico della paziente anziana a basso rischio individuata dallo screening mammografico (sezioni 1.1.7, 1.2.3, 1.2.4, 1.2.5 e 1.2.6): chirurgia conservativa, radioterapia adiuvante ed endocrinoterapia esclusiva, generalmente con inibitori dell'aromatasi.

L'assenza del dato sull'espressione recettoriale

Un limite metodologico riguarda la mancata inclusione, fra le caratteristiche istopatologiche previste dal disegno dello studio, dell'espressione recettoriale e quindi del sottotipo molecolare. Tale informazione non può essere ricavata in modo affidabile a posteriori dallo schema terapeutico, perché l'associazione fra sottotipo e trattamento non è biunivoca (sezioni 1.1.4 e 1.2.6). I tumori Luminali B con Recurrence Score intermedio all'Oncotype DX possono ricevere la sola endocrinoterapia, risultando indistinguibili dai tumori Luminali A; d'altra parte, alcuni Luminali A con elevato coinvolgimento linfonodale possono ricevere endocrinoterapia associata a chemioterapia, risultando indistinguibili dai Luminali B. A ciò si aggiungono le pazienti che hanno rifiutato la chemioterapia o l'endocrinoterapia e la quota, non trascurabile, di pazienti senza alcun trattamento adiuvante (5,5%), elementi che indeboliscono ulteriormente la corrispondenza fra sottotipo e terapia osservata.

Pur in assenza di una associazione diretta fra sottotipo molecolare e terapia, alcune osservazioni restano possibili. Il fatto che quasi il 70% delle pazienti sia stato trattato con la sola terapia endocrina è fortemente suggestivo di un'elevata prevalenza di tumori Luminali A nella casistica. Allo stesso modo, la quota molto contenuta di pazienti trattate con terapia anti-HER2 (8,0%) o con chemioterapia esclusiva (4,1%), pari complessivamente al 12,1%, è indicativo di una scarsa numerosità dei tumori HER2-positivi e triplo-negativi. Questo dato non è determinato da una distorsione nella selezione delle pazienti, ma è coerente con lo scenario d'uso proprio della tecnica OSNA: non essendo affidabile dopo chemioterapia neoadiuvante (sezione 1.3.3), essa non è di fatto praticabile in una larga parte dei tumori non-Luminali, i quali presentano peraltro una prevalenza già minoritaria nell'epidemiologia del carcinoma mammario (sezione 1.1.4).

La relazione tra Total Tumor Load e stadio pN

Nel sottogruppo sottoposto a dissezione ascellare, il Total Tumor Load del linfonodo sentinella mostra una associazione diretta con lo stadio pN, con un valore mediano che cresce progressivamente da pN1 a pN3. La correlazione è statisticamente significativa ma di intensità contenuta (test di Spearman: $p = 0,011$, $\rho = 0,33$).

Questo risultato è in linea con la letteratura sul valore predittivo del TTL per la presenza di metastasi nei linfonodi non sentinella (sezione 1.3.5), che da quasi quindici anni documenta una capacità predittiva reale del parametro ma non è ancora giunta a un consenso sulle soglie da adottare. La modesta intensità della correlazione è verosimilmente attribuibile alla grandissima variabilità del TTL, che nella presente casistica si distribuisce su diversi ordini di grandezza, da un minimo di 250 fino a oltre dieci milioni di copie/ μL , una dispersione che non viene governata nemmeno dalla conversione in scala logaritmica.

4.2 VALORE PROGNOSTICO DELLO STATO OSNA ALL'ANALISI DELLA SOPRAVVIVENZA

Il modello a due livelli come principale discriminare prognostico

L'accorpamento delle pazienti positive per micrometastasi con quelle positive per macrometastasi in un'unica categoria, contrapposta a quelle negative, individua il principale discriminare prognostico della casistica. Il confronto raggiunge la significatività statistica per la sopravvivenza globale ($p = 0,026$) e si colloca al limite della significatività per la sopravvivenza libera da malattia ($p = 0,059$). A sette anni le due popolazioni divergono in misura clinicamente rilevante, con uno scarto di 8,5 punti percentuali per la sopravvivenza globale (91,0% vs 82,5%) e di 11 punti per la sopravvivenza libera da malattia (85,8% vs 74,8%). È inoltre significativo che, per entrambi gli endpoint, lo scarto si sia ampliato passando dal follow-up a cinque anni a quello a sette anni (Δ OS da 5,9 a 8,5; Δ DFS da 10,2 a 11). Questo andamento suggerisce un'ulteriore divergenza delle curve con il prolungarsi dell'osservazione, tale da poter condurre alla significatività statistica anche per la sopravvivenza libera da malattia.

Il dato individua nel passaggio da linfonodo sentinella negativo a positivo, piuttosto che nella graduazione interna fra micro- e macrometastasi, il vero punto di stratificazione prognostica.

I modelli a tre livelli e le soglie di Total Tumor Load proposte in letteratura

Né il modello OSNA standard a tre livelli né i modelli costruiti sulle soglie di Total Tumor Load definite dal gruppo di Osako (sezione 1.3.6) hanno raggiunto la significatività statistica nella casistica.

In tutti i casi, tuttavia, si è osservato un gradiente coerente fra carico molecolare e prognosi, con una sopravvivenza costantemente inferiore nelle popolazioni a più alto carico di malattia. Nel modello a tre livelli la sopravvivenza diminuisce in modo ordinato passando da negativo a

micrometastasi a macrometastasi, sia per la sopravvivenza globale sia per sopravvivenza la libera da malattia (OS 96,0% vs 92,2% vs 88,3%; DFS 89,8% vs 83,0% vs 76,6%). La sopravvivenza globale e la sopravvivenza libera da malattia è inferiore nella popolazione al di sopra della soglia di 1.100 copie/ μ L (OS 95,7% vs 89,1%; DFS 89,1% vs 78,2%); lo stesso avviene prendendo in considerazione la soglia di 2.810 copie/ μ L (OS 95,2% vs 89,9%; DFS 88,8% vs 77,4%).

La direzione dell'effetto è quindi sempre concorde con l'ipotesi prognostica, ma l'entità degli scarti è troppo modesta perché il segnale emerga come statisticamente significativo.

Potenza statistica e razionale della dicotomizzazione

La limitata potenza statistica dello studio era prevedibile ed è dovuta al numero contenuto di eventi, che rende difficile confermare formalmente una soglia prognostica. A questo concorrono due fattori principali. In primo luogo, la casistica è per sua natura a buona prognosi, trattandosi di tumori della mammella individuati in fase precoce attraverso lo screening (sezione 1.1.7). In secondo luogo, la popolazione è prevalentemente a sottotipo Luminale A, che tende a recidivare tardivamente rispetto all'attuale follow-up mediano di sette anni (sezione 1.1.4). A questi si aggiunge l'età avanzata della coorte: una quota dei 44 decessi registrati non è di natura oncologica e, poiché gli endpoint dello studio considerano il decesso indipendentemente dalla causa, la mortalità competitiva diluisce il segnale prognostico del linfonodo sentinella. È verosimile che l'adozione della sopravvivenza cancro-specifica come endpoint rafforzerebbe la potenza statistica dell'analisi.

Il fatto che soltanto la distinzione fra OSNA negativo e positivo si sia dimostrata significativa ha un fondamento sia statistico sia biologico. Sul piano statistico, la dicotomizzazione concentra i 44 decessi e i 60 eventi di malattia disponibili in due sole categorie, conferendo a ciascuna una numerosità di eventi adeguata e quindi una potenza superiore rispetto al confronto a tre categorie. Non sorprende perciò che un segnale diluito e non significativo nell'analisi a tre livelli emerga con chiarezza una volta accorpate le due categorie positive. Sul piano biologico, il risultato è coerente con l'ipotesi che la sola presenza di metastasi nel linfonodo sentinella identifichi una neoplasia con potenziale di disseminazione già espresso, in larga misura indipendentemente dal carico quantitativo della metastasi stessa.

A questa lettura non si oppone il dato dell'indice di concordanza (C-index), che attribuisce al modello a tre livelli un potere discriminante solo lievemente superiore a quello del modello a due livelli (OS 0,581 vs 0,579; DFS 0,568 vs 0,567). Il modello a tre categorie scioglie infatti i pareggi fra micro- e macrometastasi che il modello a due lascia indistinti, ma il guadagno è dell'ordine dei millesimi: le coppie di pazienti composte da una micrometastatica e una macrometastatica sono poche rispetto al totale dei confronti, e l'informazione aggiuntiva così recuperata è pressoché nulla.

4.3 ANALISI ESPLORATIVA DEI CUT-OFF OTTIMALI DI TOTAL TUMOR LOAD

La ricerca, all'interno della presente casistica, di soglie di Total Tumor Load alternative a quelle validate in letteratura si è rivelata infruttuosa. Le statistiche di rango a selezione massimale avevano individuato due soglie preliminari ottimali che massimizzavano la separazione delle curve, apparentemente significative al livello nominale (OS: 1.465 copie/ μ L, $\chi^2 = 4,67$, $p = 0,031$; DFS: 130.414 copie/ μ L, $\chi^2 = 5,48$, $p = 0,019$).

Tuttavia, il raggiungimento del p nominale non è sufficiente per soglie individuate retrospettivamente: avendo selezionato il cut-off migliore fra molti confronti, la procedura comporta un'inflazione del rischio di falso positivo che la singola statistica di rango non corregge. Ha confermato questa interpretazione la verifica tramite test di permutazione, con 500 permutazioni casuali dei dati costruite in modo che il TTL non abbia per definizione alcun valore prognostico. Alla permutazione la significatività si perde completamente (OS: p permutazionale = 0,164; DFS: p permutazionale = 0,094), perché una quota rilevante delle permutazioni nulle raggiunge per puro rumore statistico un χ^2 massimo pari o superiore a quello osservato nei dati reali.

A ulteriore conferma, i modelli costruiti su tali soglie presentano un indice di concordanza inferiore a quello dei modelli basati sulle soglie OSNA validate. I cut-off ottimali identificati erano quindi un artefatto statistico casuale e i dati di questa casistica non supportano l'adozione di una soglia di copie/ μ L alternativa a quelle già validate.

4.4 REGRESSIONI DI COX

Analisi univariata

Nell'analisi univariata l'età è stata modellizzata per intervalli di dieci anni e lo stadio pT dicotomizzato alla soglia $pT \geq 2$, secondo le convenzioni adottate in letteratura. Lo stadio pN non è stato invece valutabile, poichè la dissezione ascellare è stata eseguita solo nel 16,9% della casistica e con un numero di eventi troppo esiguo. I fattori prognostici clinico-patologici classici confermano il loro peso: l'età (OS HR 2,02, $p = 0,001$; DFS HR 1,42, $p = 0,003$) e lo stadio $pT \geq 2$ (OS HR 2,56, $p = 0,002$; DFS HR 1,75, $p = 0,04$) si associano a un marcato aumento del rischio (sezioni 1.1.9 e 1.2.8).

Lo stato OSNA positivo quasi raddoppia il rischio di morte (HR 1,94, $p = 0,029$), mentre aumenta di circa due terzi il rischio di recidiva o morte al limite della significatività (HR 1,67, $p = 0,062$), collocandosi su un ordine di grandezza vicino a quello dei fattori prognostici classici. Il Total Tumor Load modellato come variabile continua su scala logaritmica risulta significativo per la sopravvivenza globale e al limite della significatività per la sopravvivenza libera da malattia, ma con un effetto molto debole (OS HR 1,14, $p = 0,043$; DFS HR 1,12, $p = 0,061$), coerentemente con l'ampia dispersione del parametro su più ordini di grandezza già discussa.

Un dato di particolare interesse è che lo stato OSNA positivo, e in misura analoga il logaritmo del TTL, si siano dimostrati più prognostici del grado istologico G3, fattore patologico tradizionalmente robusto che in questa popolazione non mostra invece alcun effetto sul rischio (OS HR 0,99; DFS HR 0,95).

Analisi multivariata

L'analisi multivariata parsimoniosa ha incluso stato OSNA positivo, età e $pT \geq 2$. Sono stati esclusi il logaritmo del TTL, completamente collineare con la positività OSNA e meno potente di essa, e il grado istologico, privo di effetto nella casistica. Tali esclusioni hanno consentito di rispettare il vincolo di almeno dieci eventi per covariata, necessario per evitare stime instabili.

In questo modello, l'effetto dello stato OSNA positivo si attenua e perde la significatività (OS HR 1,66, $p = 0,109$; DFS HR 1,57, $p = 0,112$). Ciò che nell'analisi univariata appariva attribuibile al linfonodo sentinella, si rivela in parte spiegato dall'età e dallo stadio pT , con il quale la categoria OSNA è risultata associata nella statistica descrittiva. Resta comunque un Hazard Ratio rilevante, corrispondente a un aumento di circa il 60% del rischio di recidiva o morte; l'assenza di significatività è verosimilmente dovuta al numero contenuto di eventi e al disegno dello studio già discussi.

Il modello multivariato presenta una buona capacità prognostica complessiva misurata al C-index, soprattutto per la sopravvivenza globale (0,754 per OS; 0,649 per DFS). Questo valore non è direttamente confrontabile con quello del modello prognostico validato da Osako nel 2022 (sezione 1.3.6), che non è una regressione di Cox bensì una regressione logistica a esito binario (evento a cinque anni sì/no), la cui accuratezza è espressa tramite indice AUC e non tramite C-index. Inoltre, il modello di Osako adotta come endpoint la sopravvivenza libera da recidiva a distanza; nella presente casistica le metastasi a distanza sono troppo poche (20) per costruire su di esse regressioni attendibili.

Limiti e fattori non misurati

La già citata mancanza del dato sull'espressione recettoriale rappresenta un limite anche in questa fase, perché avrebbe consentito di stratificare ulteriormente l'analisi. È infatti possibile che il valore prognostico del linfonodo OSNA positivo differisca fra tumori Luminali e tumori non Luminali, come succede ad esempio nel caso della Risposta Patologica Completa, anch'essa un valore prognostico intermedio come la quantificazione OSNA (sezione 1.2.2). È altresì possibile che una parte dell'Hazard Ratio osservato sia spiegata in realtà dal sottotipo molecolare.

Va inoltre ricordato che i tumori Luminali A, ampiamente prevalenti nella casistica, tendono a recidivare tardivamente; tuttavia, il test dei residui di Schoenfeld è risultato negativo per lo stato OSNA in tutti i modelli ($p \geq 0,128$), indicando che le stime dell'Hazard Ratio non hanno risentito di una distribuzione temporale disomogenea delle recidive. È verosimile che un follow-up mediano a dieci o quindici anni avrebbe fatto emergere un incremento tardivo delle recidive più marcato.

4.5 COORTE CON MICROMETASTASI

La tecnica OSNA aumenta il detection rate delle micrometastasi rispetto all'esame istologico intraoperatorio con sezioni congelate (sezione 1.3.2): proprio la positività per micrometastasi si è rivelata, in questa casistica, la soglia prognostica principale per l'aumento del rischio di morte o recidiva. Per questo motivo i tassi di sopravvivenza e gli Hazard Ratio sono stati ricalcolati sulla sola coorte delle micrometastasi, allo scopo di verificare se le tendenze osservate nel gruppo OSNA positivo si mantenessero una volta escluse le pazienti con carico di malattia maggiore. I risultati si sono dimostrati estremamente sovrapponibili a quelli dell'intera coorte positiva (OS a 7 anni 81,6% vs 82,5%; DFS a 7 anni 75,2% vs 74,8%; OS HR univariato 1,85 vs 1,94; DFS HR univariato 1,59 vs 1,67).

Questa concordanza indica che le tendenze evidenziate nella coorte OSNA positivo sono trainate principalmente dalle pazienti micrometastatiche, e rafforza la lettura della positività come soglia prognostica fondamentale. Il dato assume particolare rilievo clinico perché il modello conserva il valore prognostico proprio nelle pazienti con micrometastasi, nelle quali non viene di norma eseguita la dissezione ascellare e lo stadio pN non è quindi disponibile: in questo contesto il risultato OSNA rappresenta l'unica informazione sul carico di malattia ascellare e può svolgere il ruolo di marcatore surrogato.

4.6 CONCLUSIONI

Lo stato OSNA come fattore prognostico intermedio: il treatment paradox

Un aspetto cruciale per interpretare il valore prognostico della tecnica OSNA è la sua natura di fattore intermedio nel percorso terapeutico. Il risultato OSNA non è infatti un marcatore osservato passivamente, ma guida già oggi attivamente l'intensificazione del trattamento: nella presente casistica le pazienti OSNA-positive sono state avviate alla dissezione ascellare e alla chemioterapia adiuvante con frequenza nettamente maggiore rispetto alle negative (dissezione 54% vs 0%; chemioterapia adiuvante 38% vs 19%). Di conseguenza, l'Hazard Ratio osservato costituisce una stima conservativa dell'effetto prognostico del linfonodo sentinella, in parte attenuata proprio dalla terapia che il linfonodo stesso contribuisce ad attivare.

Si tratta del fenomeno noto come treatment paradox: i fattori prognostici negativi tendono a essere utilizzati dai clinici per selezionare le pazienti da indirizzare ai trattamenti più radicali, fatto che rende il fattore artificialmente meno prognostico di quanto sia in realtà. Al limite estremo, un marcatore prognostico perfetto, che attivasse una terapia perfettamente curativa, non mostrerebbe alcun segnale alla valutazione retrospettiva dei tassi di sopravvivenza. Per questo motivo il valore prognostico viene sistematicamente sottostimato negli studi retrospettivi osservazionali condotti su popolazioni già trattate, un bias che Riley et al. annoverano fra i principali ostacoli alla validità e alla trasferibilità di questo tipo di studi.(312)

In questa prospettiva, il fatto che il linfonodo OSNA positivo si associ a un aumento di circa il 60% del rischio di morte o recidiva, nonostante la maggiore intensità di trattamento già ricevuta da queste pazienti, ne rafforza il significato prognostico piuttosto che indebolirlo. La stessa considerazione, tuttavia, deve essere estesa anche agli altri fattori prognostici classici adottati nella pratica clinica (sezione 1.1.9), anch'essi soggetti al medesimo meccanismo. In conclusione, lo stato OSNA positivo ha probabilmente un potere prognostico superiore a quanto la statistica di questo studio suggerisca, pur restando più debole rispetto ai fattori prognostici consolidati per il carcinoma mammario.

Il ruolo della tecnica OSNA nell'era della de-escalation ascellare

Infine, il ruolo clinico della tecnica OSNA deve essere valutato alla luce della profonda de-escalation della chirurgia ascellare avvenuta negli ultimi quindici anni. Una serie di trial randomizzati ha progressivamente ridimensionato l'indicazione alla dissezione ascellare e, in casi selezionati, alla stessa biopsia del linfonodo sentinella (sezioni 1.2.4, 1.2.5). Nata come strumento per orientare la decisione immediata sulla dissezione ascellare, la tecnica tende oggi a configurarsi sempre più come mezzo di quantificazione del carico di malattia linfonodale attraverso il Total Tumor Load.

È proprio la de-escalation ascellare a poter conferire in futuro una maggiore importanza alla metodica. La conoscenza dello stato pN è infatti necessaria per identificare le pazienti ad alto rischio candidabili ad alcune terapie adiuvanti di nuova generazione, quali gli inibitori delle CDK4/6 (abemaciclib), le terapie anti-HER2 di seconda generazione (pertuzumab) e gli inibitori di PARP (olaparib); e potrebbe risultare indispensabile anche per ulteriori terapie future (sezione 1.2.6). Mentre lo stadio pN è però accessibile solo dopo la dissezione ascellare, il Total Tumor Load fornisce una misura quantitativa disponibile per tutte le pazienti, e potrebbe pertanto essere impiegato un giorno come marcatore surrogato. In questo risiede il razionale per proseguire l'indagine sul valore prognostico del linfonodo sentinella analizzato con tecnica OSNA.

5. BIBLIOGRAFIA

1. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2024;74(3):229–63. doi:10.3322/caac.21834 PubMed PMID: 38572751.
2. GBD 2023 Cancer Collaborators. The global, regional, and national burden of cancer, 1990-2023, with forecasts to 2050: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2023. *Lancet.* 11 ottobre 2025;406(10512):1565–86. doi:10.1016/S0140-6736(25)01635-6 PubMed PMID: 41015051; PubMed Central PMCID: PMC12687902.
3. Breast cancer: Global patterns of incidence, mortality, and trends. - ASCO [Internet]. [citato 27 maggio 2026]. Disponibile su: <https://www.asco.org/abstracts-presentations/219390>
4. Yu X, Zhang C, Fu M. The European burden of breast cancer in 2022. *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol.* marzo 2026;52(3):111420. doi:10.1016/j.ejso.2026.111420 PubMed PMID: 41687168.
5. Birnbaum JK, Duggan C, Anderson BO, Etzioni R. Early detection and treatment strategies for breast cancer in low-income and upper middle-income countries: a modelling study. *Lancet Glob Health.* agosto 2018;6(8):e885–93. doi:10.1016/S2214-109X(18)30257-2
6. Francies FZ, Hull R, Khanyile R, Dlamini Z. Breast cancer in low-middle income countries: abnormality in splicing and lack of targeted treatment options. *Am J Cancer Res.* 2020;10(5):1568–91. PubMed PMID: 32509398; PubMed Central PMCID: PMC7269781.
7. Benitez Fuentes JD, Morgan E, de Luna Aguilar A, Mafra A, Shah R, Giusti F, et al. Global Stage Distribution of Breast Cancer at Diagnosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JAMA Oncol.* 1 gennaio 2024;10(1):71–8. doi:10.1001/jamaoncol.2023.4837 PubMed PMID: 37943547; PubMed Central PMCID: PMC10636649.
8. Associazione Italiana di Oncologia Medica (AIOM), Associazione Italiana Registri Tumori (AIRTUM), Osservatorio Nazionale Screening, sorveglianza PASSI, Società Italiana di Anatomia Patologica e di Citologia Diagnostica (SIAPeC-IAP). I numeri del cancro in Italia 2024 [Internet]. Roma: Ministero della Salute; 2024 [citato 1 maggio 2026]. Report XIV edizione. Disponibile su: https://www.salute.gov.it/new/sites/default/files/imported/C_17_pubblicazioni_3510_allegato.pdf
9. Jørgensen KJ, Gøtzsche PC. Overdiagnosis in publicly organised mammography screening programmes: systematic review of incidence trends. *BMJ.* 9 luglio 2009;339:b2587. doi:10.1136/bmj.b2587 PubMed PMID: 19589821; PubMed Central PMCID: PMC2714679.
10. Kim J, Harper A, McCormack V, Sung H, Houssami N, Morgan E, et al. Global patterns and trends in breast cancer incidence and mortality across 185 countries. *Nat Med.* aprile 2025;31(4):1154–62. doi:10.1038/s41591-025-03502-3 PubMed PMID: 39994475.
11. Giaquinto AN, Sung H, Newman LA, Freedman RA, Smith RA, Star J, et al. Breast cancer statistics 2024. *CA Cancer J Clin.* novembre 2024;74(6):477–95. doi:10.3322/caac.21863
12. Ahmad S, Shaukat MT, Rehman WU, Mohsin A, Rehman AU, Graff SL. The global and regional disease burden of breast cancer from 1980 to 2021: An analysis of GBD study 2021. *JCO Oncol Pract.* ottobre 2024;20(10_suppl):146–146. doi:10.1200/OP.2024.20.10_suppl.146

13. Giordano SH. Breast Cancer in Men. *N Engl J Med*. 14 giugno 2018;378(24):2311–20. doi:10.1056/NEJMr1707939
14. Ellington TD, Henley SJ, Wilson RJ, Miller JW. Breast Cancer Survival Among Males by Race, Ethnicity, Age, Geographic Region, and Stage - United States, 2007-2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 16 ottobre 2020;69(41):1481–4. doi:10.15585/mmwr.mm6941a2 PubMed PMID: 33056954; PubMed Central PMCID: PMC7561088.
15. An B, Che M, Liu Y, Yang X, Li Z. Analysis and comparison of the burden of male breast cancer: differences between the global, China, India, and the United States. *BMC Public Health*. 2 luglio 2025;25(1):2205. doi:10.1186/s12889-025-23120-5 PubMed PMID: 40604532; PubMed Central PMCID: PMC12217540.
16. Loibl S, Poortmans P, Morrow M, Denkert C, Curigliano G. Breast cancer. *Lancet*. 8 maggio 2021;397(10286):1750–69. doi:10.1016/S0140-6736(20)32381-3 PubMed PMID: 33812473.
17. Practice Bulletin No. 179 Summary: Breast Cancer Risk Assessment and Screening in Average-Risk Women. *Obstet Gynecol*. luglio 2017;130(1):241. doi:10.1097/AOG.0000000000002151
18. Mburu W, Guo C, Tian Y, Koka H, Fu S, Lu N, et al. Associations between quantitative measures of mammographic density and terminal ductal lobular unit involution in Chinese breast cancer patients. *Breast Cancer Res BCR*. 15 luglio 2024;26(1):116. doi:10.1186/s13058-024-01856-z PubMed PMID: 39010116; PubMed Central PMCID: PMC11247848.
19. Benson JR, Jatoi I, Keisch M, Esteva FJ, Makris A, Jordan VC. Early breast cancer. *Lancet*. 25 aprile 2009;373(9673):1463–79. doi:10.1016/S0140-6736(09)60316-0 PubMed PMID: 19394537.
20. Jasienska G, Bribiescas RG, Furberg AS, Helle S, Núñez-de la Mora A. Human reproduction and health: an evolutionary perspective. *Lancet*. 29 luglio 2017;390(10093):510–20. doi:10.1016/S0140-6736(17)30573-1 PubMed PMID: 28792413.
21. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Menarche, menopause, and breast cancer risk: individual participant meta-analysis, including 118 964 women with breast cancer from 117 epidemiological studies. *Lancet Oncol*. novembre 2012;13(11):1141–51. doi:10.1016/S1470-2045(12)70425-4 PubMed PMID: 23084519; PubMed Central PMCID: PMC3488186.
22. Gompel A, Simcock R. Menopausal hormone treatment and breast cancer. *Lancet Diabetes Endocrinol*. marzo 2026;14(3):259–74. doi:10.1016/S2213-8587(25)00394-8 PubMed PMID: 41619758.
23. Gérard C, Brown KA. Obesity and breast cancer - Role of estrogens and the molecular underpinnings of aromatase regulation in breast adipose tissue. *Mol Cell Endocrinol*. 5 maggio 2018;466:15–30. doi:10.1016/j.mce.2017.09.014 PubMed PMID: 28919302.
24. Shen S, Brown KA, Green AK, Iyengar NM. Obesity and Cancer: A Translational Science Review. *JAMA*. 21 aprile 2026;335(15):1341–50. doi:10.1001/jama.2026.1114
25. Guo M, Liu T, Li P, Wang T, Zeng C, Yang M, et al. Association Between Metabolic Syndrome and Breast Cancer Risk: An Updated Meta-Analysis of Follow-Up Studies. *Front Oncol*. 2019;9:1290. doi:10.3389/fonc.2019.01290 PubMed PMID: 31824862; PubMed Central PMCID: PMC6883425.
26. Sohi I, Rehm J, Saab M, Virmani L, Franklin A, Sánchez G, et al. Alcoholic beverage consumption and female breast cancer risk: A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies.

- Alcohol Clin Exp Res. dicembre 2024;48(12):2222–41. doi:10.1111/acer.15493 PubMed PMID: 39581746; PubMed Central PMCID: PMC11629438.
27. Hamajima N, Hirose K, Tajima K, Rohan T, Calle EE, Heath CW, et al. Alcohol, tobacco and breast cancer--collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the disease. *Br J Cancer*. 18 novembre 2002;87(11):1234–45. doi:10.1038/sj.bjc.6600596 PubMed PMID: 12439712; PubMed Central PMCID: PMC2562507.
 28. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Breast Cancer Risk Reduction [Clinical Practice Guideline] [Internet]. National Comprehensive Cancer Network (NCCN); 2026 [citato 1 maggio 2026]. Clinical Practice Guideline Version 1.2026. Disponibile su: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/breast_risk.pdf
 29. Key TJ, Verkasalo PK, Banks E. Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol*. marzo 2001;2(3):133–40. doi:10.1016/S1470-2045(00)00254-0 PubMed PMID: 11902563.
 30. Barcellos-Hoff MH. New biological insights on the link between radiation exposure and breast cancer risk. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. marzo 2013;18(1):3–13. doi:10.1007/s10911-013-9272-x PubMed PMID: 23325014.
 31. Breast Cancer Facts & Figures 2024-2025 [Cancer Facts & Figures] [Internet]. Atlanta, GA: American Cancer Society; 2024 [citato 1 maggio 2026]. Disponibile su: <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/breast-cancer-facts-and-figures/2024/breast-cancer-facts-and-figures-2024.pdf>
 32. O'Brien KM, Keil AP, Taylor JA, Weinberg CR, Polley EC, Yadav S, et al. Pathogenic Variants, Family History, and Cumulative Risk of Breast Cancer in US Women. *JAMA Oncol*. 1 dicembre 2025;11(12):1458–69. doi:10.1001/jamaoncol.2025.3875
 33. Claus EB, Schildkraut JM, Thompson WD, Risch NJ. The genetic attributable risk of breast and ovarian cancer. *Cancer*. 1996;77(11):2318–24. doi:10.1002/(SICI)1097-0142(19960601)77:11<2318::AID-CNCR21>3.0.CO;2-Z
 34. Sokolova A, Johnstone KJ, McCart Reed AE, Simpson PT, Lakhani SR. Hereditary breast cancer: syndromes, tumour pathology and molecular testing. *Histopathology*. 2023;82(1):70–82. doi:10.1111/his.14808
 35. Management of Hereditary Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology, American Society for Radiation Oncology, and Society of Surgical Oncology Guideline. *J Clin Oncol* [Internet]. [citato 27 maggio 2026]. Disponibile su: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.20.00299>
 36. Kuchenbaecker KB, Hopper JL, Barnes DR, Phillips KA, Mooij TM, Roos-Blom MJ, et al. Risks of Breast, Ovarian, and Contralateral Breast Cancer for BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *JAMA*. 20 giugno 2017;317(23):2402–16. doi:10.1001/jama.2017.7112
 37. Pathology of familial breast cancer: differences between breast cancers in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations and sporadic cases. Breast Cancer Linkage Consortium. *Lancet*. 24 maggio 1997;349(9064):1505–10. PubMed PMID: 9167459.
 38. Victora CG, Bahl R, Barros AJD, França GVA, Horton S, Krasevec J, et al. Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *Lancet*. 30 gennaio 2016;387(10017):475–90. doi:10.1016/S0140-6736(15)01024-7 PubMed PMID: 26869575.

39. Stordal B, Harvie M, Antoniou MN, Bellingham M, Chan DSM, Darbre P, et al. Breast cancer risk and prevention in 2024: An overview from the Breast Cancer UK - Breast Cancer Prevention Conference. *Cancer Med.* 2024;13(18):e70255. doi:10.1002/cam4.70255
40. Gapstur SM, Drope JM, Jacobs EJ, Teras LR, McCullough ML, Douglas CE, et al. A blueprint for the primary prevention of cancer: Targeting established, modifiable risk factors. *CA Cancer J Clin.* novembre 2018;68(6):446–70. doi:10.3322/caac.21496 PubMed PMID: 30303518.
41. Cuzick J, Sestak I, Forbes JF, Dowsett M, Cawthorn S, Mansel RE, et al. Use of anastrozole for breast cancer prevention (IBIS-II): long-term results of a randomised controlled trial. *Lancet.* 11 gennaio 2020;395(10218):117–22. doi:10.1016/S0140-6736(19)32955-1 PubMed PMID: 31839281; PubMed Central PMCID: PMC6961114.
42. Nelson HD, Fu R, Zakher B, Pappas M, McDonagh M. Medication Use for the Risk Reduction of Primary Breast Cancer in Women: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. *JAMA.* 3 settembre 2019;322(9):868–86. doi:10.1001/jama.2019.5780
43. Use of Endocrine Therapy for Breast Cancer Risk Reduction: ASCO Clinical Practice Guideline Update | *Journal of Clinical Oncology* [Internet]. [citato 27 maggio 2026]. Disponibile su: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.19.01472>
44. Jensen HM. On the origin and progression of human breast cancer. *Am J Obstet Gynecol.* giugno 1986;154(6):1280–4. doi:10.1016/0002-9378(86)90713-1 PubMed PMID: 2424309.
45. Organisation mondiale de la santé, curatore. Breast tumours. 5th ed. Geneva: OMS. (World health organization classification of tumours; fasc. 2).
46. Delaloge S, Khan SA, Wesseling J, Whelan T. Ductal carcinoma in situ of the breast: finding the balance between overtreatment and undertreatment. *Lancet.* 22 giugno 2024;403(10445):2734–46. doi:10.1016/S0140-6736(24)00425-2 PubMed PMID: 38735296.
47. Wells WA, Carney PA, Eliassen MS, Grove MR, Tosteson AN. Pathologists' agreement with experts and reproducibility of breast ductal carcinoma-in-situ classification schemes. *Am J Surg Pathol.* maggio 2000;24(5):651–9. doi:10.1097/00000478-200005000-00003 PubMed PMID: 10800983.
48. Brogi E. The morphologic spectrum of lobular carcinoma in situ (LCIS) observations on clinical significance, management implications and diagnostic pitfalls of classic, florid and pleomorphic LCIS. *Virchows Arch Int J Pathol.* dicembre 2022;481(6):823–37. doi:10.1007/s00428-022-03299-3 PubMed PMID: 35567633.
49. Frykberg ER. Lobular Carcinoma In Situ of the Breast. *Breast J.* 1999;5(5):296–303. doi:10.1046/j.1524-4741.1999.00002.x
50. Giuliano AE, Connolly JL, Edge SB, Mittendorf EA, Rugo HS, Solin LJ, et al. Breast Cancer-Major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin.* 8 luglio 2017;67(4):290–303. doi:10.3322/caac.21393 PubMed PMID: 28294295.
51. Sullivan KM, Flanagan MR, Kilgore MR, Anderson BO. Lobular Carcinoma In Situ: Risk Factor or Cancer Precursor? In: Amersi F, Calhoun K, curatori. *Atypical Breast Proliferative Lesions and Benign Breast Disease* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2018 [citato 28 maggio 2026]. p.

- 21–36. Disponibile su: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-92657-5_2 doi:10.1007/978-3-319-92657-5_2
52. Saowapa S, Wannaphut C, Jayakumar J, Ponvilawan B, Afridi SS, Gupta V, et al. Incidence and survival outcomes of breast cancer subtypes in the United States. *J Clin Oncol.* giugno 2025;43(16_suppl). doi:10.1200/JCO.2025.43.16_suppl.e13184
 53. Tan PH, Ellis I, Allison K, Brogi E, Fox SB, Lakhani S, et al. The 2019 World Health Organization classification of tumours of the breast. *Histopathology.* 2020;77(2):181–5. doi:10.1111/his.14091
 54. Corso G, Fusco N, Guerini-Rocco E, Leonardi MC, Criscitiello C, Zagami P, et al. Invasive lobular breast cancer: Focus on prevention, genetics, diagnosis, and treatment. *Semin Oncol.* 2024;51(3–4):106–22. doi:10.1053/j.seminoncol.2024.05.001 PubMed PMID: 38897820.
 55. Bullock E, Brunton VG. E-Cadherin-Mediated Cell-Cell Adhesion and Invasive Lobular Breast Cancer. *Adv Exp Med Biol.* 2025;1464:259–75. doi:10.1007/978-3-031-70875-6_14 PubMed PMID: 39821030.
 56. Canas-Marques R, Schnitt SJ. E-cadherin immunohistochemistry in breast pathology: uses and pitfalls. *Histopathology.* 1 gennaio 2016;68(1):57–69. doi:10.1111/his.12869
 57. Pramod N, Nigam A, Basree M, Mawalkar R, Mehra S, Shinde N, et al. Comprehensive Review of Molecular Mechanisms and Clinical Features of Invasive Lobular Cancer. *The Oncologist.* giugno 2021;26(6):e943–53. doi:10.1002/onco.13734 PubMed PMID: 33641217; PubMed Central PMCID: PMC8176983.
 58. Kim J, Kim JY, Lee HB, Lee YJ, Seong MK, Paik N, et al. Characteristics and prognosis of 17 special histologic subtypes of invasive breast cancers according to World Health Organization classification: comparative analysis to invasive carcinoma of no special type. *Breast Cancer Res Treat.* novembre 2020;184(2):527–42. doi:10.1007/s10549-020-05861-6 PubMed PMID: 32794061.
 59. Ellis I, Webster F, Allison KH, Dang C, Gobbi H, Kulka J, et al. Dataset for reporting of the invasive carcinoma of the breast: recommendations from the International Collaboration on Cancer Reporting (ICCR). *Histopathology.* 1 settembre 2024;85(3):418–36. doi:10.1111/his.15191
 60. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, Van De Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 17 agosto 2000;406(6797):747–52. doi:10.1038/35021093
 61. Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 11 settembre 2001;98(19):10869–74. doi:10.1073/pnas.191367098 PubMed PMID: 11553815; PubMed Central PMCID: PMC58566.
 62. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 8 luglio 2003;100(14):8418–23. doi:10.1073/pnas.0932692100 PubMed PMID: 12829800; PubMed Central PMCID: PMC166244.
 63. Tang P, Tse GM. Immunohistochemical Surrogates for Molecular Classification of Breast Carcinoma: A 2015 Update. *Arch Pathol Lab Med.* agosto 2016;140(8):806–14. doi:10.5858/arpa.2015-0133-RA PubMed PMID: 27472239.

64. Laokulrath N, Gudi M, Salahuddin SA, Chong APY, Ding C, Iqbal J, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) status in breast cancer: practice points and challenges. *Histopathology*. 2024;85(3):371–82. doi:10.1111/his.15213
65. Sotiriou C, Pusztai L. Gene-Expression Signatures in Breast Cancer. *N Engl J Med*. 19 febbraio 2009;360(8):790–800. doi:10.1056/NEJMra0801289
66. Rios-Hoyo A, Shan NL, Karn PL, Pusztai L. Clinical Implications of Breast Cancer Intrinsic Subtypes. *Adv Exp Med Biol*. 2025;1464:435–48. doi:10.1007/978-3-031-70875-6_21 PubMed PMID: 39821037.
67. Acheampong T, Kehm RD, Terry MB, Argov EL, Tehranifar P. Incidence Trends of Breast Cancer Molecular Subtypes by Age and Race/Ethnicity in the US From 2010 to 2016. *JAMA Netw Open*. 17 agosto 2020;3(8):e2013226. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.13226
68. Nielsen TO, Leung SCY, Rimm DL, Dodson A, Acs B, Badve S, et al. Assessment of Ki67 in Breast Cancer: Updated Recommendations From the International Ki67 in Breast Cancer Working Group. *J Natl Cancer Inst*. 1 luglio 2021;113(7):808–19. doi:10.1093/jnci/djaa201 PubMed PMID: 33369635; PubMed Central PMCID: PMC8487652.
69. Brogna MR, Ferrara G, Varone V, Montone A, Schiano M, DelSesto M, et al. Evaluation and Comparison of Prognostic Multigene Tests in Early-Stage Breast Cancer: Which Is the Most Effective? A Literature Review Exploring Clinical Utility to Enhance Therapeutic Management in Luminal Patients. *Mol Carcinog*. 2025;64(5):789–800. doi:10.1002/mc.23893
70. Burstein HJ, Curigliano G, Loibl S, Dubsy P, Gnant M, Poortmans P, et al. Estimating the benefits of therapy for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Consensus Guidelines for the primary therapy of early breast cancer 2019. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 1 ottobre 2019;30(10):1541–57. doi:10.1093/annonc/mdz235 PubMed PMID: 31373601.
71. Gradishar WJ, Moran MS, Abraham J, Abramson V, Aft R, Agnese D, et al. Breast Cancer, Version 3.2024, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. luglio 2024;22(5):331–57. doi:10.6004/jnccn.2024.0035
72. Loibl S, André F, Bachelot T, Barrios CH, Bergh J, Burstein HJ, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up☆. *Ann Oncol*. 1 febbraio 2024;35(2):159–82. doi:10.1016/j.annonc.2023.11.016 PubMed PMID: 38101773.
73. Linee Guida AIOM 2023 – Carcinoma mammario in stadio precoce [SNLG ISS] [Internet]. Roma: Associazione Italiana di Oncologia Medica (AIOM); novembre 2023 [citato 1 maggio 2026]. SNLG ISS LG_C0013. Disponibile su: https://www.iss.it/documents/20126/8403839/LG_C0013_AIOM_Ca-mammario-precoce.pdf/fb5df1bd-2712-9166-68e7-6e296912776e?t=1704702928747
74. Il Protocollo Diagnostico-Terapeutico e Assistenziale per il carcinoma mammario della Regione Emilia-Romagna [Collana Contributi] [Internet]. Bologna: Regione Emilia-Romagna; marzo 2018 [citato 1 maggio 2026]. Collana Contributi no.: 100/2018. Disponibile su: <https://salute.regione.emilia-romagna.it/normativa-e-documentazione/rapporti/contributi/contributi-n-100-2018-il-protocollo-diagnostico-terapeutico-e-assistenziale-per-il-carcinoma-mammario-della-regione-emilia-romagna>
75. Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, Pritchard KI, Albain KS, Hayes DF, et al. Adjuvant Chemotherapy Guided by a 21-Gene Expression Assay in Breast Cancer. *N Engl J Med*. 12 luglio 2018;379(2):111–21. doi:10.1056/NEJMoa1804710

76. Kalinsky K, Barlow WE, Gralow JR, Meric-Bernstam F, Albain KS, Hayes DF, et al. 21-Gene Assay to Inform Chemotherapy Benefit in Node-Positive Breast Cancer. *N Engl J Med*. 16 dicembre 2021;385(25):2336–47. doi:10.1056/NEJMoa2108873
77. Ministero della Salute. Modalità di riparto e requisiti di utilizzo del fondo per i test genomici ormonoresponsivo per il carcinoma mammario in stadio precoce. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana* [Internet]. 7 luglio 2021. p. 20–3. Disponibile su: <https://www.gazzettaufficiale.it/eli/gu/2021/07/07/161/sg/pdf>
78. Ryerson AB, Miller J, Ehemann CR. Reported breast symptoms in the National Breast and Cervical Cancer Early Detection Program. *Cancer Causes Control CCC*. maggio 2015;26(5):733–40. doi:10.1007/s10552-015-0544-1 PubMed PMID: 25754109; PubMed Central PMCID: PMC4431920.
79. Koo MM, Swann R, McPhail S, Abel GA, Elliss-Brookes L, Rubin GP, et al. Presenting symptoms of cancer and stage at diagnosis: evidence from a cross-sectional, population-based study. *Lancet Oncol*. gennaio 2020;21(1):73–9. doi:10.1016/S1470-2045(19)30595-9 PubMed PMID: 31704137; PubMed Central PMCID: PMC6941215.
80. Practice Bulletin No. 164: Diagnosis and Management of Benign Breast Disorders. *Obstet Gynecol*. giugno 2016;127(6):e141. doi:10.1097/AOG.0000000000001482
81. Bevers TB, Niell BL, Baker JL, Bennett DL, Bonaccio E, Camp MS, et al. NCCN Guidelines® Insights: Breast Cancer Screening and Diagnosis, Version 1.2023: Featured Updates to the NCCN Guidelines. *J Natl Compr Canc Netw*. settembre 2023;21(9):900–9. doi:10.6004/jnccn.2023.0046
82. Piatto JRM, de Andrade RDJA, Chala LF, de Barros N, Mano MS, Melitto AS, et al. MRI to Predict Nipple Involvement in Breast Cancer Patients. *AJR Am J Roentgenol*. maggio 2016;206(5):1124–30. doi:10.2214/AJR.15.15187 PubMed PMID: 27010761.
83. Hester RH, Hortobagyi GN, Lim B. Inflammatory breast cancer: early recognition and diagnosis is critical. *Am J Obstet Gynecol*. ottobre 2021;225(4):392–6. doi:10.1016/j.ajog.2021.04.217 PubMed PMID: 33845027.
84. Sohn G, Son BH, Lee SJ, Kang EY, Jung SH, Cho SH, et al. Treatment and survival of patients with occult breast cancer with axillary lymph node metastasis: A nationwide retrospective study. *J Surg Oncol*. 2014;110(3):270–4. doi:10.1002/jso.23644
85. Chen MT, Sun HF, Zhao Y, Fu WY, Yang LP, Gao SP, et al. Comparison of patterns and prognosis among distant metastatic breast cancer patients by age groups: a SEER population-based analysis. *Sci Rep*. 23 agosto 2017;7(1):9254. doi:10.1038/s41598-017-10166-8
86. Zhang M, Deng H, Hu R, Chen F, Dong S, Zhang S, et al. Patterns and prognostic implications of distant metastasis in breast Cancer based on SEER population data. *Sci Rep*. 23 luglio 2025;15(1):26717. doi:10.1038/s41598-025-12883-x PubMed PMID: 40696141; PubMed Central PMCID: PMC12284020.
87. Carty NJ, Foggitt A, Hamilton CR, Royle GT, Taylor I. Patterns of clinical metastasis in breast cancer: an analysis of 100 patients. *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol*. dicembre 1995;21(6):607–8. doi:10.1016/s0748-7983(95)95176-8 PubMed PMID: 8631404.
88. Chalasani P. Breast Cancer Clinical Presentation. *Medscape EMedicine* [Internet]. 14 maggio 2026 [citato 28 maggio 2026]. Disponibile su: <https://emedicine.medscape.com/article/1947145-clinical>

89. Henderson JA, Duffee D, Ferguson T. Breast Examination Techniques. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026 [citato 28 maggio 2026]. Disponibile su: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459179/> PubMed PMID: 29083747.
90. Mammography in combination with breast ultrasonography versus mammography for breast cancer screening in women at average risk - Glechner, A - 2023 | Cochrane Library [Internet]. [citato 28 maggio 2026]. Disponibile su: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD009632.pub3/full>
91. Dhamija E, Gulati M, Deo SVS, Gogia A, Hari S. Digital Breast Tomosynthesis: an Overview. *Indian J Surg Oncol.* giugno 2021;12(2):315–29. doi:10.1007/s13193-021-01310-y PubMed PMID: 34295076; PubMed Central PMCID: PMC8272763.
92. Holt DB. Breast Density Masking and the Need for Precision Screening. *JAMA.* 28 aprile 2026;335(16):1385–6. doi:10.1001/jama.2026.2443
93. Liu X, Yang T, Yao J. Impact of digital breast tomosynthesis on screening performance and interval cancer rates compared to digital mammography: A meta-analysis. *PloS One.* 2025;20(1):e0315466. doi:10.1371/journal.pone.0315466 PubMed PMID: 39888906; PubMed Central PMCID: PMC11785311.
94. Fontaine M, Tourasse C, Pages E, Laurent N, Laffargue G, Millet I, et al. Local Tumor Staging of Breast Cancer: Digital Mammography versus Digital Mammography Plus Tomosynthesis. *Radiology.* giugno 2019;291(3):594–603. doi:10.1148/radiol.2019182457 PubMed PMID: 30964425.
95. Kaidar-Person O, Pfob A, Gentilini OD, Borisch B, Bosch A, Cardoso MJ, et al. The Lucerne Toolbox 2 to optimise axillary management for early breast cancer: a multidisciplinary expert consensus. *EClinicalMedicine.* luglio 2023;61:102085. doi:10.1016/j.eclinm.2023.102085 PubMed PMID: 37528842; PubMed Central PMCID: PMC10388578.
96. Wang J, Di W, Shi K, Wang S, Jiang Y, Xu W, et al. Axilla View of Mammography in Preoperative Axillary Lymph Node Evaluation of Breast Cancer Patients: A Pilot Study. *Clin Breast Cancer.* febbraio 2024;24(2):e51–60. doi:10.1016/j.clbc.2023.10.004 PubMed PMID: 37925360.
97. Hooley RJ, Scoutt LM, Philpotts LE. Breast ultrasonography: state of the art. *Radiology.* settembre 2013;268(3):642–59. doi:10.1148/radiol.13121606 PubMed PMID: 23970509.
98. Upadhyay N, Wolska J. Imaging the dense breast. *J Surg Oncol.* 2024;130(1):29–35. doi:10.1002/jso.27661
99. Glechner A, Wagner G, Mitus JW, Teufer B, Klerings I, Böck N, et al. Mammography in combination with breast ultrasonography versus mammography for breast cancer screening in women at average risk. *Cochrane Database Syst Rev.* 2023;(3). doi:10.1002/14651858.CD009632.pub3
100. Appleton DC, Hackney L, Narayanan S. Ultrasonography alone for diagnosis of breast cancer in women under 40. *Ann R Coll Surg Engl.* aprile 2014;96(3):202–6. doi:10.1308/003588414X13824511649896 PubMed PMID: 24780784; PubMed Central PMCID: PMC4474049.
101. Le-Petross HT, Slanetz PJ, Lewin AA, Bao J, Dibble EH, Golshan M, et al. ACR Appropriateness Criteria® Imaging of the Axilla. *J Am Coll Radiol.* 1 maggio 2022;19(5):S87–113. doi:10.1016/j.jacr.2022.02.010

102. Dobruch-Sobczak K, Szlenk A, Gumowska M, Mączewska J, Fronczewska K, Łukasiewicz E, et al. Multiparametric ultrasound assessment of axillary lymph nodes in patients with breast cancer. *Sci Rep.* 4 ottobre 2024;14(1):23072. doi:10.1038/s41598-024-73376-x PubMed PMID: 39366984; PubMed Central PMCID: PMC11452636.
103. Zheng H, Zhao R, Wang W, Liu X, Wang X, Wen C, et al. The accuracy of ultrasound-guided fine-needle aspiration and core needle biopsy in diagnosing axillary lymph nodes in women with breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Front Oncol.* 2023;13:1166035. doi:10.3389/fonc.2023.1166035 PubMed PMID: 37416528; PubMed Central PMCID: PMC10320388.
104. Mann RM, Cho N, Moy L. Breast MRI: State of the Art. *Radiology.* settembre 2019;292(3):520–36. doi:10.1148/radiol.2019182947 PubMed PMID: 31361209.
105. Selvi V, Nori J, Meattini I, Francolini G, Morelli N, Benedetto DD, et al. Role of Magnetic Resonance Imaging in the Preoperative Staging and Work-Up of Patients Affected by Invasive Lobular Carcinoma or Invasive Ductal Carcinoma. *BioMed Res Int.* 1 gennaio 2018;2018(1):1569060. doi:10.1155/2018/1569060
106. Wu WP, Chen CY, Lee CW, Wu HK, Chen ST, Wu YT, et al. Impact of pre-operative breast magnetic resonance imaging on contralateral synchronous and metachronous breast cancer detection-A case control comparison study with 1468 primary operable breast cancer patients with mean follow-up of 102 months. *PloS One.* 2021;16(11):e0260093. doi:10.1371/journal.pone.0260093 PubMed PMID: 34793522; PubMed Central PMCID: PMC8601561.
107. Di Leo G, Trimboli RM, Benedek A, Jereczek-Fossa BA, Fossati P, Leonardi MC, et al. MR Imaging for Selection of Patients for Partial Breast Irradiation: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Radiology.* dicembre 2015;277(3):716–26. doi:10.1148/radiol.2015142508 PubMed PMID: 26043263.
108. Marinovich ML, Houssami N, Macaskill P, Sardanelli F, Irwig L, Mamounas EP, et al. Meta-analysis of magnetic resonance imaging in detecting residual breast cancer after neoadjuvant therapy. *J Natl Cancer Inst.* 6 marzo 2013;105(5):321–33. doi:10.1093/jnci/djs528 PubMed PMID: 23297042.
109. Samreen N, Madsen LB, Chacko C, Heller SL. Magnetic resonance imaging in the evaluation of pathologic nipple discharge: indications and imaging findings. *Br J Radiol.* 1 aprile 2021;94(1120):20201013. doi:10.1259/bjr.20201013 PubMed PMID: 33544650; PubMed Central PMCID: PMC8010557.
110. Mann RM, Kuhl CK, Moy L. Contrast-enhanced MRI for breast cancer screening. *J Magn Reson Imaging JMRI.* agosto 2019;50(2):377–90. doi:10.1002/jmri.26654 PubMed PMID: 30659696; PubMed Central PMCID: PMC6767440.
111. Newell M, Destounis S, Leung J, DeMartini W, Lee C, Eby P. *ACR BI-RADS® v2025 Manual.* Reston, VA.
112. Rao AA, Feneis J, Lalonde C, Ojeda-Fournier H. A Pictorial Review of Changes in the BI-RADS Fifth Edition. *RadioGraphics.* maggio 2016;36(3):623–39. doi:10.1148/rg.2016150178
113. Lacambra MD, Lam CC, Mendoza P, Chan SK, Yu AM, Tsang JYS, et al. Biopsy sampling of breast lesions: comparison of core needle- and vacuum-assisted breast biopsies. *Breast Cancer Res Treat.* aprile 2012;132(3):917–23. doi:10.1007/s10549-011-1639-3 PubMed PMID: 21698409.

114. Ellis IO, Rakha EA, Tse GM, Tan PH. An international unified approach to reporting and grading invasive breast cancer. An overview of the International Collaboration on Cancer Reporting (ICCR) initiative. *Histopathology*. 1 gennaio 2023;82(1):189–97. doi:10.1111/his.14802
115. Najjar S, Allison KH. Updates on breast biomarkers. *Virchows Arch Int J Pathol*. gennaio 2022;480(1):163–76. doi:10.1007/s00428-022-03267-x PubMed PMID: 35029776.
116. Provenzano E, Shaaban AM. Pathology of neoadjuvant therapy and immunotherapy testing for breast cancer. *Histopathology*. 2023;82(1):170–88. doi:10.1111/his.14771
117. Murillo R, Basu P, Ginsburg O, Patnick J, Smith RA. Screening. In: *World Cancer Report: Cancer research for cancer prevention* [Internet]. International Agency for Research on Cancer; 2020 [citato 28 maggio 2026]. Disponibile su: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK606487/>
118. Xia C, Yu XQ, Chen W. Measuring population-level cure patterns for cancer patients in the United States. *Int J Cancer*. 15 febbraio 2023;152(4):738–48. doi:10.1002/ijc.34291 PubMed PMID: 36104936.
119. Hubbell E, Clarke CA, Smedby KE, Adami HO, Chang ET. Potential for Cure by Stage across the Cancer Spectrum in the United States. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol*. 6 febbraio 2024;33(2):206–14. doi:10.1158/1055-9965.EPI-23-1018 PubMed PMID: 38019271; PubMed Central PMCID: PMC10844847.
120. MILLER RG. Breast Cancer Screening. *J Gen Intern Med*. marzo 2001;16(3):206–7. doi:10.1111/j.1525-1497.2001.10119.x PubMed PMID: 11318918; PubMed Central PMCID: PMC1495188.
121. Ren W, Chen M, Qiao Y, Zhao F. Global guidelines for breast cancer screening: A systematic review. *Breast*. agosto 2022;64:85–99. doi:10.1016/j.breast.2022.04.003 PubMed PMID: 35636342; PubMed Central PMCID: PMC9142711.
122. Perry N, Broeders M, de Wolf C, Törnberg S, Holland R, von Karsa L. European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and diagnosis. Fourth edition--summary document. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. aprile 2008;19(4):614–22. doi:10.1093/annonc/mdm481 PubMed PMID: 18024988.
123. Coolen AMP, Voogd AC, Strobbe LJ, Louwman MWJ, Tjan-Heijnen VCG, Duijm LEM. Impact of the second reader on screening outcome at blinded double reading of digital screening mammograms. *Br J Cancer*. agosto 2018;119(4):503–7. doi:10.1038/s41416-018-0195-6
124. Al Hasan SM, Bennett DL, Toriola AT. Screening programmes and breast cancer mortality: an observational study of 194 countries. *Bull World Health Organ*. 1 agosto 2025;103(8):470–83. doi:10.2471/BLT.24.292529 PubMed PMID: 40766731; PubMed Central PMCID: PMC12322760.
125. Molassiotis A, Tyrovolas S, Giné-Vázquez I, Yeo W, Aapro M, Herrstedt J. Organized breast cancer screening not only reduces mortality from breast cancer but also significantly decreases disability-adjusted life years: analysis of the Global Burden of Disease Study and screening programme availability in 130 countries. *ESMO Open*. giugno 2021;6(3):100111. doi:10.1016/j.esmoop.2021.100111 PubMed PMID: 33892452; PubMed Central PMCID: PMC8085709.
126. Freedman GM, Anderson PR, Goldstein LJ, Hanlon AL, Cianfrocca ME, Millenson MM, et al. Routine mammography is associated with earlier stage disease and greater eligibility for breast

- conservation in breast carcinoma patients age 40 years and older. *Cancer*. 1 settembre 2003;98(5):918–25. doi:10.1002/cncr.11605 PubMed PMID: 12942557.
127. Barth RJ, Gibson GR, Carney PA, Mott LA, Becher RD, Poplack SP. Detection of breast cancer on screening mammography allows patients to be treated with less-toxic therapy. *AJR Am J Roentgenol*. gennaio 2005;184(1):324–9. doi:10.2214/ajr.184.1.01840324 PubMed PMID: 15615996.
 128. Oeffinger KC, Fontham ETH, Etzioni R, Herzig A, Michaelson JS, Shih YCT, et al. Breast Cancer Screening for Women at Average Risk: 2015 Guideline Update from the American Cancer Society. *JAMA*. 20 ottobre 2015;314(15):1599–614. doi:10.1001/jama.2015.12783 PubMed PMID: 26501536; PubMed Central PMCID: PMC4831582.
 129. Deandrea S, Molina-Barceló A, Uluturk A, Moreno J, Neamtii L, Peiró-Pérez R, et al. Presence, characteristics and equity of access to breast cancer screening programmes in 27 European countries in 2010 and 2014. Results from an international survey. *Prev Med*. ottobre 2016;91:250–63. doi:10.1016/j.ypmed.2016.08.021 PubMed PMID: 27527575.
 130. Cardoso R, Hoffmeister M, Brenner H. Breast cancer screening programmes and self-reported mammography use in European countries. *Int J Cancer*. 15 giugno 2023;152(12):2512–27. doi:10.1002/ijc.34494 PubMed PMID: 36883419.
 131. Zielonke N, Gini A, Jansen EEL, Anttila A, Segnan N, Ponti A, et al. Evidence for reducing cancer-specific mortality due to screening for breast cancer in Europe: A systematic review. *Eur J Cancer*. marzo 2020;127:191–206. doi:10.1016/j.ejca.2019.12.010 PubMed PMID: 31932175.
 132. Uematsu T. Rethinking screening mammography in Japan: next-generation breast cancer screening through breast awareness and supplemental ultrasonography. *Breast Cancer*. gennaio 2024;31(1):24–30. doi:10.1007/s12282-023-01506-w
 133. Sauvaget C, Nishino Y, Konno R, Tase T, Morimoto T, Hisamichi S. Challenges in breast and cervical cancer control in Japan. *Lancet Oncol*. 1 luglio 2016;17(7):e305–12. doi:10.1016/S1470-2045(16)30121-8 PubMed PMID: 27396648.
 134. Hamashima C, Takahashi H. Cancer screening programs in Japan: Progress and challenges. *J Med Screen*. 1 dicembre 2024;31(4):207–10. doi:10.1177/09691413241240564
 135. Harada-Shoji N, Suzuki A, Ishida T, Yamamoto S, Kanemura S, Yamaguchi T, et al. Cumulative incidence of advanced breast cancer in women aged 40–49 years in the Japan Strategic Anti-cancer Randomised Trial (J-START) of adjunctive ultrasonography: a prespecified secondary analysis. *Lancet*. 21 febbraio 2026;407(10530):784–93. doi:10.1016/S0140-6736(25)02319-0 PubMed PMID: 41722967.
 136. Anderson BO, Cazap E, El Saghir NS, Yip CH, Khaled HM, Otero IV, et al. Optimisation of breast cancer management in low-resource and middle-resource countries: executive summary of the Breast Health Global Initiative consensus, 2010. *Lancet Oncol*. aprile 2011;12(4):387–98. doi:10.1016/S1470-2045(11)70031-6 PubMed PMID: 21463833.
 137. Recommendations by age group and resource setting. In: WHO Position Paper on Mammography Screening [Internet]. World Health Organization; 2014 [citato 28 maggio 2026]. Disponibile su: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK269538/>

138. Sayed S, Ngugi AK, Nwosu N, Mutebi MC, Ochieng P, Mwenda AS, et al. Training health workers in clinical breast examination for early detection of breast cancer in low- and middle-income countries. *Cochrane Database Syst Rev.* 2023;(4). doi:10.1002/14651858.CD012515.pub2
139. Giorgi Rossi P, Carrozzi G, Federici A, Mancuso P, Sampaolo L, Zappa M. Invitation coverage and participation in Italian cervical, breast and colorectal cancer screening programmes. *J Med Screen.* marzo 2018;25(1):17–23. doi:10.1177/0969141317704476 PubMed PMID: 28614991.
140. Amin MB, American Joint Committee on Cancer, American Cancer Society, curatori. *AJCC cancer staging manual.* Eight edition / editor-in-chief, Mahul B. Amin, MD, FCAP ; editors, Stephen B. Edge, MD, FACS [and 16 others] ; Donna M. Gress, RHIT, CTR-Technical editor ; Laura R. Meyer, CAPM- Managing editor. Chicago IL: American Joint Committee on Cancer, Springer; 2017. 1024 p.
141. Brierley J, Gospodarowicz MK, Wittekind C. *TNM Classification of Malignant Tumours.* 8th ed. Chichester: John Wiley & Sons, Incorporated; 2017. 1 p. (Uicc).
142. Bayle A, Bonastre J, Chaltiel D, Latino N, Rouleau E, Peters S, et al. ESMO study on the availability and accessibility of biomolecular technologies in oncology in Europe. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* ottobre 2023;34(10):934–45. doi:10.1016/j.annonc.2023.06.011 PubMed PMID: 37406812.
143. Brierley J, O’Sullivan B, Asamura H, Byrd D, Huang SH, Lee A, et al. Global Consultation on Cancer Staging: promoting consistent understanding and use. *Nat Rev Clin Oncol.* dicembre 2019;16(12):763–71. doi:10.1038/s41571-019-0253-x PubMed PMID: 31388125; PubMed Central PMCID: PMC7136160.
144. Oldenhuis CN a. M, Oosting SF, Gietema JA, de Vries EGE. Prognostic versus predictive value of biomarkers in oncology. *Eur J Cancer.* maggio 2008;44(7):946–53. doi:10.1016/j.ejca.2008.03.006 PubMed PMID: 18396036.
145. Cianfrocca M, Goldstein LJ. Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer. *The Oncologist.* 2004;9(6):606–16. doi:10.1634/theoncologist.9-6-606 PubMed PMID: 15561805.
146. Brierley J, Gospodarowicz M, O’Sullivan B. *The principles of cancer staging.* ecancermedalscience. 24 novembre 2016;10. doi:10.3332/ecancer.2016.ed61
147. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med.* luglio 2000;124(7):966–78. doi:10.5858/2000-124-0966-PFIBC PubMed PMID: 10888772.
148. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer.* 1 gennaio 1989;63(1):181–7. doi:10.1002/1097-0142(19890101)63:1<181::aid-cnrcr2820630129>3.0.co;2-h PubMed PMID: 2910416.
149. Saadatmand S, Bretveld R, Siesling S, Tilanus-Linthorst MMA. Influence of tumour stage at breast cancer detection on survival in modern times: population based study in 173,797 patients. *BMJ.* 6 ottobre 2015;351:h4901. doi:10.1136/bmj.h4901 PubMed PMID: 26442924; PubMed Central PMCID: PMC4595560.
150. Allred DC, Harvey JM, Berardo M, Clark GM. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol.* 1998;11(2):155–68.
151. Waks AG, Winer EP. Breast Cancer Treatment: A Review. *JAMA.* 22 gennaio 2019;321(3):288–300. doi:10.1001/jama.2018.19323

152. Knight WA, Livingston RB, Gregory EJ, McGuire WL. Estrogen Receptor as an Independent Prognostic Factor for Early Recurrence in Breast Cancer. *Cancer Res.* 1977;37(12):4669–71.
153. Abe O, Abe R, Enomoto K, Kikuchi K, Koyama H, Nomura Y, et al. Tamoxifen for early breast cancer: An overview of the randomised trials. *The Lancet.* 1998;351(9114):1451–67. doi:10.1016/S0140-6736(97)11423-4
154. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), Davies C, Godwin J, Gray R, Clarke M, Cutter D, 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.* 27 agosto 2011;378(9793):771–84. doi:10.1016/S0140-6736(11)60993-8 PubMed PMID: 21802721; PubMed Central PMCID: PMC3163848.
155. Estrogen and Progesterone Receptor Testing in Breast Cancer: ASCO/CAP Guideline Update. *J Clin Oncol* [Internet]. [citato 31 maggio 2026]. Disponibile su: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.19.02309>
156. Press MF, Bernstein L, Thomas PA, Meisner LF, Zhou JY, Ma Y, et al. HER-2/neu gene amplification characterized by fluorescence in situ hybridization: Poor prognosis in node-negative breast carcinomas. *J Clin Oncol.* 1997;15(8):2894–904. doi:10.1200/JCO.1997.15.8.2894
157. Swain SM, Shastry M, Hamilton E. Targeting HER2-positive breast cancer: advances and future directions. *Nat Rev Drug Discov.* febbraio 2023;22(2):101–26. doi:10.1038/s41573-022-00579-0
158. Kunte S, Abraham J, Montero AJ. Novel HER2-targeted therapies for HER2-positive metastatic breast cancer. *Cancer.* 1 ottobre 2020;126(19):4278–88. doi:10.1002/cncr.33102 PubMed PMID: 32721042.
159. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative group (EBCTCG). Trastuzumab for early-stage, HER2-positive breast cancer: a meta-analysis of 13 864 women in seven randomised trials. *Lancet Oncol.* agosto 2021;22(8):1139–50. doi:10.1016/S1470-2045(21)00288-6 PubMed PMID: 34339645; PubMed Central PMCID: PMC8324484.
160. Marczyk VR, Rosa DD, Maia AL, Goemann IM. Overall Survival for HER2-Positive Breast Cancer Patients in the HER2-Targeted Era: Evidence From a Population-Based Study. *Clin Breast Cancer.* luglio 2022;22(5):418–23. doi:10.1016/j.clbc.2022.03.004 PubMed PMID: 35430163.
161. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology.* novembre 1991;19(5):403–10. doi:10.1111/j.1365-2559.1991.tb00229.x PubMed PMID: 1757079.
162. Rakha EA, El-Sayed ME, Lee AHS, Elston CW, Grainge MJ, Hodi Z, et al. Prognostic significance of Nottingham histologic grade in invasive breast carcinoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 1 luglio 2008;26(19):3153–8. doi:10.1200/JCO.2007.15.5986 PubMed PMID: 18490649.
163. Rechsteiner A, Dietrich D, Varga Z. Prognostic relevance of mixed histological subtypes in invasive breast carcinoma: a retrospective analysis. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1 luglio 2023;149(8):4967–78. doi:10.1007/s00432-022-04443-x
164. Giudici F, De Vidi S, Guzzinati S, Toffolutti F, Francisci S, Mariotto AB, et al. Metastatic Recurrence of Breast Cancer by Stage and Molecular Profile: A Population-Based Study Among Italian Women. *Cancer Med.* 2026;15(1):e71492. doi:10.1002/cam4.71492

165. Cognetti F, Masetti R, Fabi A, Bianchi G, Santini D, Rognone A, et al. PONDx: real-life utilization and decision impact of the 21-gene assay on clinical practice in Italy. *NPJ Breast Cancer*. 5 maggio 2021;7(1):47. doi:10.1038/s41523-021-00246-4 PubMed PMID: 33953182; PubMed Central PMCID: PMC8099872.
166. de Azambuja E, Cardoso F, de Castro G, Colozza M, Mano MS, Durbecq V, et al. Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. *Br J Cancer*. 21 maggio 2007;96(10):1504–13. doi:10.1038/sj.bjc.6603756 PubMed PMID: 17453008; PubMed Central PMCID: PMC2359936.
167. Tao M, Chen S, Zhang X, Zhou Q. Ki-67 labeling index is a predictive marker for a pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. dicembre 2017;96(51):e9384. doi:10.1097/MD.0000000000009384 PubMed PMID: 29390540; PubMed Central PMCID: PMC5758242.
168. Cortes J, Rugo HS, Cescon DW, Im SA, Yusof MM, Gallardo C, et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Advanced Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med*. 20 luglio 2022;387(3):217–26. doi:10.1056/NEJMoa2202809
169. Litton JK, Rugo HS, Ettl J, Hurvitz SA, Gonçalves A, Lee KH, et al. Talazoparib in Patients with Advanced Breast Cancer and a Germline *BRCA* Mutation. *N Engl J Med*. 23 agosto 2018;379(8):753–63. doi:10.1056/NEJMoa1802905
170. Tutt ANJ, Garber JE, Kaufman B, Viale G, Fumagalli D, Rastogi P, et al. Adjuvant Olaparib for Patients with *BRCA1*- or *BRCA2*-Mutated Breast Cancer. *N Engl J Med*. 23 giugno 2021;384(25):2394–405. doi:10.1056/NEJMoa2105215
171. André F, Ciruelos E, Rubovszky G, Campone M, Loibl S, Rugo HS, et al. Alpelisib for *PIK3CA*-Mutated, Hormone Receptor-Positive Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med*. 16 maggio 2019;380(20):1929–40. doi:10.1056/NEJMoa1813904
172. Bidard FC, Mayer EL, Park YH, Janni W, Ma C, Cristofanilli M, et al. First-Line Camizestrant for Emerging *ESR1*-Mutated Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med*. 6 agosto 2025;393(6):569–80. doi:10.1056/NEJMoa2502929
173. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol*. febbraio 2015;26(2):259–71. doi:10.1093/annonc/mdu450
174. Denkert C, von Minckwitz G, Darb-Esfahani S, Lederer B, Heppner BI, Weber KE, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy. *Lancet Oncol*. gennaio 2018;19(1):40–50. doi:10.1016/S1470-2045(17)30904-X PubMed PMID: 29233559.
175. Mangone L, Marinelli F, Bisceglia I, Braghiroli MB, Damato A, Pinto C. Five-year relative survival by stage of breast and colon cancers in northern Italy. *Front Oncol*. 2022;12:982461. doi:10.3389/fonc.2022.982461 PubMed PMID: 36387150; PubMed Central PMCID: PMC9659859.
176. Gong Y, Liu YR, Ji P, Hu X, Shao ZM. Impact of molecular subtypes on metastatic breast cancer patients: a SEER population-based study. *Sci Rep*. 27 marzo 2017;7:45411. doi:10.1038/srep45411 PubMed PMID: 28345619; PubMed Central PMCID: PMC5366953.

177. Hwang KT, Kim J, Jung J, Chang JH, Chai YJ, Oh SW, et al. Impact of Breast Cancer Subtypes on Prognosis of Women with Operable Invasive Breast Cancer: A Population-based Study Using SEER Database. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 15 marzo 2019;25(6):1970–9. doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-2782 PubMed PMID: 30559169.
178. Chavez-MacGregor M, Mittendorf EA, Clarke CA, Lichtensztajn DY, Hunt KK, Giordano SH. Incorporating Tumor Characteristics to the American Joint Committee on Cancer Breast Cancer Staging System. *The Oncologist.* 1 novembre 2017;22(11):1292–300. doi:10.1634/theoncologist.2017-0116
179. Deluche E, Antoine A, Bachelot T, Lardy-Cleaud A, Dieras V, Brain E, et al. Contemporary outcomes of metastatic breast cancer among 22,000 women from the multicentre ESME cohort 2008-2016. *Eur J Cancer.* aprile 2020;129:60–70. doi:10.1016/j.ejca.2020.01.016 PubMed PMID: 32135312.
180. Metzger-Filho O, Sun Z, Viale G, Price KN, Crivellari D, Snyder RD, et al. Patterns of Recurrence and outcome according to breast cancer subtypes in lymph node-negative disease: results from international breast cancer study group trials VIII and IX. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 1 settembre 2013;31(25):3083–90. doi:10.1200/JCO.2012.46.1574 PubMed PMID: 23897954; PubMed Central PMCID: PMC3753700.
181. van Maaren MC, de Munck L, Strobbe LJA, Sonke GS, Westenend PJ, Smidt ML, et al. Ten-year recurrence rates for breast cancer subtypes in the Netherlands: A large population-based study. *Int J Cancer.* 15 gennaio 2019;144(2):263–72. doi:10.1002/ijc.31914 PubMed PMID: 30368776.
182. Cheun JH, Kim HK, Moon HG, Han W, Lee HB. Locoregional Recurrence Patterns in Patients With Different Molecular Subtypes of Breast Cancer. *JAMA Surg.* 1 agosto 2023;158(8):841–52. doi:10.1001/jamasurg.2023.2150
183. Yu NY, Iftimi A, Yau C, Tobin NP, van 't Veer L, Hoadley KA, et al. Assessment of Long-term Distant Recurrence-Free Survival Associated With Tamoxifen Therapy in Postmenopausal Patients With Luminal A or Luminal B Breast Cancer. *JAMA Oncol.* 1 settembre 2019;5(9):1304–9. doi:10.1001/jamaoncol.2019.1856
184. Pan H, Gray R, Braybrooke J, Davies C, Taylor C, McGale P, et al. 20-Year Risks of Breast-Cancer Recurrence after Stopping Endocrine Therapy at 5 Years. *N Engl J Med.* 9 novembre 2017;377(19):1836–46. doi:10.1056/NEJMoa1701830
185. Caswell-Jin JL, Sun LP, Munoz D, Lu Y, Li Y, Huang H, et al. Analysis of Breast Cancer Mortality in the US—1975 to 2019. *JAMA.* 16 gennaio 2024;331(3):233–41. doi:10.1001/jama.2023.25881
186. van der Meer DJ, Kramer I, van Maaren MC, van Diest PJ, C Linn S, Maduro JH, et al. Comprehensive trends in incidence, treatment, survival and mortality of first primary invasive breast cancer stratified by age, stage and receptor subtype in the Netherlands between 1989 and 2017. *Int J Cancer.* 1 maggio 2021;148(9):2289–303. doi:10.1002/ijc.33417 PubMed PMID: 33252836; PubMed Central PMCID: PMC8048677.
187. Caswell-Jin JL, Plevritis SK, Tian L, Cadham CJ, Xu C, Stout NK, et al. Change in Survival in Metastatic Breast Cancer with Treatment Advances: Meta-Analysis and Systematic Review. *JNCI Cancer Spectr.* novembre 2018;2(4):pky062. doi:10.1093/jncics/pky062 PubMed PMID: 30627694; PubMed Central PMCID: PMC6305243.

188. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Electronic address: bc.overview@ctsu.ox.ac.uk. Reductions in recurrence in women with early breast cancer entering clinical trials between 1990 and 2009: a pooled analysis of 155 746 women in 151 trials. *Lancet*. 12 ottobre 2024;404(10461):1407–18. doi:10.1016/S0140-6736(24)01745-8 PubMed PMID: 39396348; PubMed Central PMCID: PMC12979726.
189. Pulte D, Weberpals J, Jansen L, Brenner H. Changes in population-level survival for advanced solid malignancies with new treatment options in the second decade of the 21st century. *Cancer*. 1 agosto 2019;125(15):2656–65. doi:10.1002/cncr.32160 PubMed PMID: 31095726.
190. Brücher BLD, Jamall IS. Epistemology of the Origin of Cancer III: Fundamentals of How Metastasis Arises. *Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol*. 2 novembre 2025;59(6):753–99. doi:10.33594/000000826 PubMed PMID: 41195695.
191. Cardoso F, Paluch-Shimon S, Senkus E, Curigliano G, Aapro MS, André F, et al. 5th ESO-ESMO international consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC 5). *Ann Oncol*. dicembre 2020;31(12):1623–49. doi:10.1016/j.annonc.2020.09.010
192. Associazione Italiana di Oncologia Medica (AIOM). Linee guida AIOM 2023 - Carcinoma mammario avanzato [SNLG ISS] [Internet]. Roma; ottobre 2023 [citato 1 maggio 2026]. SNLG ISS LG_C008. Disponibile su: https://www.iss.it/documents/20126/8403839/LG_C008_AIOM_Ca-mammario-avanzato-TTT2.pdf
193. Anampa J, Makower D, Sparano JA. Progress in adjuvant chemotherapy for breast cancer: an overview. *BMC Med*. 17 agosto 2015;13:195. doi:10.1186/s12916-015-0439-8 PubMed PMID: 26278220; PubMed Central PMCID: PMC4538915.
194. The requirements of a specialist breast unit. *Eur J Cancer*. dicembre 2000;36(18):2288–93. doi:10.1016/s0959-8049(00)00180-5 PubMed PMID: 11094301.
195. Saini KS, Taylor C, Ramirez AJ, Palmieri C, Gunnarsson U, Schmoll HJ, et al. Role of the multidisciplinary team in breast cancer management: results from a large international survey involving 39 countries. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. aprile 2012;23(4):853–9. doi:10.1093/annonc/mdr352 PubMed PMID: 21821551.
196. Kesson EM, Allardice GM, George WD, Burns HJG, Morrison DS. Effects of multidisciplinary team working on breast cancer survival: retrospective, comparative, interventional cohort study of 13 722 women. *BMJ*. 26 aprile 2012;344:e2718. doi:10.1136/bmj.e2718 PubMed PMID: 22539013; PubMed Central PMCID: PMC3339875.
197. Biganzoli L, Cardoso F, Beishon M, Cameron D, Cataliotti L, Coles CE, et al. The requirements of a specialist breast centre. *Breast*. giugno 2020;51:65–84. doi:10.1016/j.breast.2020.02.003 PubMed PMID: 32217457; PubMed Central PMCID: PMC7375681.
198. McDermott AM, Wall DM, Waters PS, Cheung S, Sibbering M, Horgan K, et al. Surgeon and breast unit volume-outcome relationships in breast cancer surgery and treatment. *Ann Surg*. novembre 2013;258(5):808–13; discussion 813-814. doi:10.1097/SLA.0b013e3182a66eb0 PubMed PMID: 23989053.
199. van Leeuwen MT, Falster MO, Vajdic CM, Crowe PJ, Lujic S, Klaes E, et al. Reoperation after breast-conserving surgery for cancer in Australia: statewide cohort study of linked hospital data. *BMJ Open*. 10 aprile 2018;8(4):e020858. doi:10.1136/bmjopen-2017-020858 PubMed PMID: 29643165; PubMed Central PMCID: PMC5898348.

200. Presidenza del Consiglio dei Ministri – Conferenza permanente per i rapporti tra lo Stato, le Regioni e le Province Autonome. Linee di indirizzo sulle modalità organizzative ed assistenziali della rete dei Centri di senologia. Intesa Conferenza Stato-Regioni [Internet]. 18 dicembre 2014. Disponibile su: <http://archivio.statoregioni.it/DettaglioDoc49c0.html>
201. www.evtel.com ET. senonetwork [Internet]. [citato 4 giugno 2026]. Mission. Disponibile su: <https://www.senonetwork.it/it/chi-siamo/mission/1-3704-1->
202. Magnoni F, Tinterri C, Corso G, Curigliano G, Leonardi MC, Toesca A, et al. The multicenter experience in the multidisciplinary Italian breast units: a review and update. *Eur J Cancer Prev.* maggio 2024;33(3):185. doi:10.1097/CEJ.0000000000000853
203. Fisher B, Bryant J, Wolmark N, Mamounas E, Brown A, Fisher ER, et al. Effect of preoperative chemotherapy on the outcome of women with operable breast cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* agosto 1998;16(8):2672–85. doi:10.1200/JCO.1998.16.8.2672 PubMed PMID: 9704717.
204. Curigliano G, Burstein HJ, Gnant M, Loibl S, Cameron D, Regan MM, et al. Understanding breast cancer complexity to improve patient outcomes: The St Gallen International Consensus Conference for the Primary Therapy of Individuals with Early Breast Cancer 2023. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* novembre 2023;34(11):970–86. doi:10.1016/j.annonc.2023.08.017 PubMed PMID: 37683978.
205. Cortazar P, Zhang L, Untch M, Mehta K, Costantino JP, Wolmark N, et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet.* 12 luglio 2014;384(9938):164–72. doi:10.1016/S0140-6736(13)62422-8 PubMed PMID: 24529560.
206. Conforti F, Pala L, Sala I, Oriecuia C, De Pas T, Specchia C, et al. Evaluation of pathological complete response as surrogate endpoint in neoadjuvant randomised clinical trials of early stage breast cancer: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 21 dicembre 2021;375:e066381. doi:10.1136/bmj-2021-066381 PubMed PMID: 34933868; PubMed Central PMCID: PMC8689398.
207. Tarantino P, Hortobagyi G, Tolaney SM, Mittendorf EA. Heterogeneity of Residual Disease After Neoadjuvant Systemic Therapy in Breast Cancer: A Review. *JAMA Oncol.* 1 novembre 2024;10(11):1578–84. doi:10.1001/jamaoncol.2024.3679
208. Yau C, Osdoit M, van der Noordaa M, Shad S, Wei J, de Croze D, et al. Residual cancer burden after neoadjuvant chemotherapy and long-term survival outcomes in breast cancer: a multicentre pooled analysis of 5161 patients. *Lancet Oncol.* gennaio 2022;23(1):149–60. doi:10.1016/S1470-2045(21)00589-1 PubMed PMID: 34902335; PubMed Central PMCID: PMC9455620.
209. Gianni L, Pienkowski T, Im YH, Roman L, Tseng LM, Liu MC, 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.* gennaio 2012;13(1):25–32. doi:10.1016/S1470-2045(11)70336-9 PubMed PMID: 22153890.
210. Schneeweiss A, Chia S, Hickish T, Harvey V, Eniu A, Hegg R, 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 Off J Eur Soc Med Oncol.* settembre 2013;24(9):2278–84. doi:10.1093/annonc/mdt182 PubMed PMID: 23704196.

211. Schmid P, Cortes J, Puzsai L, McArthur H, Kümmel S, Bergh J, et al. Pembrolizumab for Early Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med.* 27 febbraio 2020;382(9):810–21. doi:10.1056/NEJMoa1910549 PubMed PMID: 32101663.
212. Fisher B, Bauer M, Margolese R, Poisson R, Pilch Y, Redmond C, et al. Five-year results of a randomized clinical trial comparing total mastectomy and segmental mastectomy with or without radiation in the treatment of breast cancer. *N Engl J Med.* 14 marzo 1985;312(11):665–73. doi:10.1056/NEJM198503143121101 PubMed PMID: 3883167.
213. Veronesi U, Saccozzi R, Del Vecchio M, Banfi A, Clemente C, De Lena M, et al. Comparing radical mastectomy with quadrantectomy, axillary dissection, and radiotherapy in patients with small cancers of the breast. *N Engl J Med.* 2 luglio 1981;305(1):6–11. doi:10.1056/NEJM198107023050102 PubMed PMID: 7015141.
214. Veronesi U, Cascinelli N, Mariani L, Greco M, Saccozzi R, Luini A, et al. Twenty-Year Follow-up of a Randomized Study Comparing Breast-Conserving Surgery with Radical Mastectomy for Early Breast Cancer. *N Engl J Med.* 17 ottobre 2002;347(16):1227–32. doi:10.1056/NEJMoa020989
215. Fisher B, Anderson S, Bryant J, Margolese RG, Deutsch M, Fisher ER, 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.* 17 ottobre 2002;347(16):1233–41. doi:10.1056/NEJMoa022152 PubMed PMID: 12393820.
216. Rutherford CL, Barker S, Romics L. A systematic review of oncoplastic volume replacement breast surgery: oncological safety and cosmetic outcome. *Ann R Coll Surg Engl.* gennaio 2022;104(1):5–17. doi:10.1308/rcsann.2021.0012 PubMed PMID: 34767472; PubMed Central PMCID: PMC10335172.
217. Moran MS, Schnitt SJ, Giuliano AE, Harris JR, Khan SA, Horton J, et al. Society of Surgical Oncology-American Society for Radiation Oncology consensus guideline on margins for breast-conserving surgery with whole-breast irradiation in stages I and II invasive breast cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1 marzo 2014;88(3):553–64. doi:10.1016/j.ijrobp.2013.11.012 PubMed PMID: 24521674; PubMed Central PMCID: PMC4790083.
218. Zhong YM, Tong F, Shen J. Lympho-vascular invasion impacts the prognosis in breast-conserving surgery: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer.* 25 gennaio 2022;22(1):102. doi:10.1186/s12885-022-09193-0
219. Amersi F, Giuliano AE. Management of the axilla. *Hematol Oncol Clin North Am.* agosto 2013;27(4):687–702, vii. doi:10.1016/j.hoc.2013.05.002 PubMed PMID: 23915739.
220. DiSipio T, Rye S, Newman B, Hayes S. Incidence of unilateral arm lymphoedema after breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol.* 1 maggio 2013;14(6):500–15. doi:10.1016/S1470-2045(13)70076-7 PubMed PMID: 23540561.
221. Niebling MG, Pleijhuis RG, Bastiaannet E, Brouwers AH, Dam GM van, Hoekstra HJ. A systematic review and meta-analyses of sentinel lymph node identification in breast cancer and melanoma, a plea for tracer mapping. *Eur J Surg Oncol.* 1 aprile 2016;42(4):466–73. doi:10.1016/j.ejso.2015.12.007 PubMed PMID: 26853759.
222. Krag DN, Anderson SJ, Julian TB, Brown AM, Harlow SP, Costantino JP, 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.* ottobre 2010;11(10):927–33. doi:10.1016/S1470-2045(10)70207-2 PubMed PMID: 20863759; PubMed Central PMCID: PMC3041644.
223. Galimberti V, Cole BF, Viale G, Veronesi P, Vicini E, Intra M, et al. Axillary dissection versus no axillary dissection in patients with breast cancer and sentinel-node micrometastases (IBCSG 23-01): 10-year follow-up of a randomised, controlled phase 3 trial. *Lancet Oncol.* ottobre 2018;19(10):1385–93. doi:10.1016/S1470-2045(18)30380-2 PubMed PMID: 30196031.
 224. Giuliano AE, Ballman KV, McCall L, Beitsch PD, Brennan MB, Kelemen PR, et al. Effect of Axillary Dissection vs No Axillary Dissection on 10-Year Overall Survival Among Women With Invasive Breast Cancer and Sentinel Node Metastasis: The ACOSOG Z0011 (Alliance) Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 12 settembre 2017;318(10):918–26. doi:10.1001/jama.2017.11470 PubMed PMID: 28898379; PubMed Central PMCID: PMC5672806.
 225. Tinterri C, Gentile D, Gatzemeier W, Sagona A, Barbieri E, Testori A, et al. Preservation of Axillary Lymph Nodes Compared with Complete Dissection in T1-2 Breast Cancer Patients Presenting One or Two Metastatic Sentinel Lymph Nodes: The SINODAR-ONE Multicenter Randomized Clinical Trial. *Ann Surg Oncol.* settembre 2022;29(9):5732–44. doi:10.1245/s10434-022-11866-w PubMed PMID: 35552930.
 226. de Boniface J, Filtenborg Tvedskov T, Rydén L, Szulkin R, Reimer T, Kühn T, et al. Omitting Axillary Dissection in Breast Cancer with Sentinel-Node Metastases. *N Engl J Med.* 4 aprile 2024;390(13):1163–75. doi:10.1056/NEJMoa2313487 PubMed PMID: 38598571.
 227. Gentilini OD, Botteri E, Sangalli C, Galimberti V, Porpiglia M, Agresti R, et al. Sentinel Lymph Node Biopsy vs No Axillary Surgery in Patients With Small Breast Cancer and Negative Results on Ultrasonography of Axillary Lymph Nodes: The SOUND Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol.* 1 novembre 2023;9(11):1557–64. doi:10.1001/jamaoncol.2023.3759 PubMed PMID: 37733364; PubMed Central PMCID: PMC10514873.
 228. Reimer T, Stachs A, Veselinovic K, Kühn T, Heil J, Polata S, et al. Axillary Surgery in Breast Cancer - Primary Results of the INSEMA Trial. *N Engl J Med.* 13 marzo 2025;392(11):1051–64. doi:10.1056/NEJMoa2412063 PubMed PMID: 39665649.
 229. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), Darby S, McGale P, Correa C, Taylor C, Arriagada R, 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.* 12 novembre 2011;378(9804):1707–16. doi:10.1016/S0140-6736(11)61629-2 PubMed PMID: 22019144; PubMed Central PMCID: PMC3254252.
 230. Haviland JS, Owen JR, Dewar JA, Agrawal RK, Barrett J, Barrett-Lee PJ, et al. The UK Standardisation of Breast Radiotherapy (START) trials of radiotherapy hypofractionation for treatment of early breast cancer: 10-year follow-up results of two randomised controlled trials. *Lancet Oncol.* 1 ottobre 2013;14(11):1086–94. doi:10.1016/S1470-2045(13)70386-3 PubMed PMID: 24055415.
 231. Poortmans PM, Collette L, Bartelink H, Struikmans H, Van den Bogaert WF, Fourquet A, et al. The addition of a boost dose on the primary tumour bed after lumpectomy in breast conserving treatment for breast cancer. A summary of the results of EORTC 22881-10882 «boost versus no boost» trial. *Cancer Radiother J Soc Francaise Radiother Oncol.* novembre 2008;12(6–7):565–70. doi:10.1016/j.canrad.2008.07.014 PubMed PMID: 18760649.

232. Whelan TJ, Olivotto IA, Parulekar WR, Ackerman I, Chua BH, Nabid A, et al. Regional Nodal Irradiation in Early-Stage Breast Cancer. *N Engl J Med*. 23 luglio 2015;373(4):307–16. doi:10.1056/NEJMoa1415340
233. Kayali M, Abi Jaoude J, Tfayli A, El Saghir N, Poortmans P, Zeidan YH. Post-mastectomy radiation therapy in breast cancer patients with 1–3 positive lymph nodes: No one size fits all. *Crit Rev Oncol Hematol*. 1 marzo 2020;147:102880. doi:10.1016/j.critrevonc.2020.102880
234. Lu Y, Yang D, Zhang X, Teng Y, Yuan W, Zhang Y, et al. Comparison of Deep Inspiration Breath Hold Versus Free Breathing in Radiotherapy for Left Sided Breast Cancer. *Front Oncol*. 21 aprile 2022;12. doi:10.3389/fonc.2022.845037
235. Bartels SAL, Donker M, Poncet C, Sauvé N, Straver ME, van de Velde CJH, et al. Radiotherapy or Surgery of the Axilla After a Positive Sentinel Node in Breast Cancer: 10-Year Results of the Randomized Controlled EORTC 10981-22023 AMAROS Trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 aprile 2023;41(12):2159–65. doi:10.1200/JCO.22.01565 PubMed PMID: 36383926.
236. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Aromatase inhibitors versus tamoxifen in early breast cancer: patient-level meta-analysis of the randomised trials. *Lancet*. 3 ottobre 2015;386(10001):1341–52. doi:10.1016/S0140-6736(15)61074-1 PubMed PMID: 26211827.
237. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), Davies C, Godwin J, Gray R, Clarke M, Cutter D, 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*. 27 agosto 2011;378(9793):771–84. doi:10.1016/S0140-6736(11)60993-8 PubMed PMID: 21802721; PubMed Central PMCID: PMC3163848.
238. Francis PA, Regan MM, Fleming GF, Láng I, Ciruelos E, Bellet M, et al. Adjuvant ovarian suppression in premenopausal breast cancer. *N Engl J Med*. 29 gennaio 2015;372(5):436–46. doi:10.1056/NEJMoa1412379 PubMed PMID: 25495490; PubMed Central PMCID: PMC4341825.
239. Pagni O, Regan MM, Walley BA, Fleming GF, Colleoni M, Láng I, et al. Adjuvant exemestane with ovarian suppression in premenopausal breast cancer. *N Engl J Med*. 10 luglio 2014;371(2):107–18. doi:10.1056/NEJMoa1404037 PubMed PMID: 24881463; PubMed Central PMCID: PMC4175521.
240. Johnston SRD, Harbeck N, Hegg R, Toi M, Martin M, Shao ZM, et al. Abemaciclib Combined With Endocrine Therapy for the Adjuvant Treatment of HR+, HER2-, Node-Positive, High-Risk, Early Breast Cancer (monarchE). *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 dicembre 2020;38(34):3987–98. doi:10.1200/JCO.20.02514 PubMed PMID: 32954927; PubMed Central PMCID: PMC7768339.
241. Johnston S, Martin M, O'Shaughnessy J, Hegg R, Tolaney SM, Guarneri V, et al. Overall survival with abemaciclib in early breast cancer☆. *Ann Oncol*. 1 febbraio 2026;37(2):155–65. doi:10.1016/j.annonc.2025.10.005 PubMed PMID: 41110697.
242. Slamon D, Lipatov O, Nowecki Z, McAndrew N, Kukiela-Budny B, Stroyakovskiy D, et al. Ribociclib plus Endocrine Therapy in Early Breast Cancer. *N Engl J Med*. 21 marzo 2024;390(12):1080–91. doi:10.1056/NEJMoa2305488 PubMed PMID: 38507751.
243. Crown J, Stroyakovskii D, Yardley DA, Huang CS, Fasching PA, Bardia A, et al. Adjuvant ribociclib plus nonsteroidal aromatase inhibitor therapy in patients with HR-positive/HER2-negative early

breast cancer: 5-year follow-up of NATALEE efficacy outcomes and updated overall survival☆. ESMO Open. 1 novembre 2025;10(11). doi:10.1016/j.esmoop.2025.105858 PubMed PMID: 41320342.

244. Gazzetta Ufficiale [Internet]. [citato 10 giugno 2026]. Disponibile su: <https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2026/03/06/26A01151/sg>
245. Mayer EL, Dueck AC, Martin M, Rubovszky G, Burstein HJ, Bellet-Ezquerria M, et al. Palbociclib with adjuvant endocrine therapy in early breast cancer (PALLAS): interim analysis of a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study. *Lancet Oncol.* febbraio 2021;22(2):212–22. doi:10.1016/S1470-2045(20)30642-2 PubMed PMID: 33460574.
246. Loibl S, Marmé F, Martin M, Untch M, Bonnefoi H, Kim SB, et al. Palbociclib for Residual High-Risk Invasive HR-Positive and HER2-Negative Early Breast Cancer-The Penelope-B Trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 10 maggio 2021;39(14):1518–30. doi:10.1200/JCO.20.03639 PubMed PMID: 33793299.
247. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, Goldhirsch A, Untch M, Smith I, et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med.* 20 ottobre 2005;353(16):1659–72. doi:10.1056/NEJMoa052306 PubMed PMID: 16236737.
248. Romond EH, Perez EA, Bryant J, Suman VJ, Geyer CE, Davidson NE, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med.* 20 ottobre 2005;353(16):1673–84. doi:10.1056/NEJMoa052122 PubMed PMID: 16236738.
249. Slamon D, Eiermann W, Robert N, Pienkowski T, Martin M, Press M, et al. Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med.* 6 ottobre 2011;365(14):1273–83. doi:10.1056/NEJMoa0910383 PubMed PMID: 21991949; PubMed Central PMCID: PMC3268553.
250. von Minckwitz G, Procter M, de Azambuja E, Zardavas D, Benyunes M, Viale G, et al. Adjuvant Pertuzumab and Trastuzumab in Early HER2-Positive Breast Cancer. *N Engl J Med.* 13 luglio 2017;377(2):122–31. doi:10.1056/NEJMoa1703643 PubMed PMID: 28581356; PubMed Central PMCID: PMC5538020.
251. von Minckwitz G, Huang CS, Mano MS, Loibl S, Mamounas EP, Untch M, et al. Trastuzumab Emtansine for Residual Invasive HER2-Positive Breast Cancer. *N Engl J Med.* 14 febbraio 2019;380(7):617–28. doi:10.1056/NEJMoa1814017 PubMed PMID: 30516102.
252. Masuda N, Lee SJ, Ohtani S, Im YH, Lee ES, Yokota I, et al. Adjuvant Capecitabine for Breast Cancer after Preoperative Chemotherapy. *N Engl J Med.* 1 giugno 2017;376(22):2147–59. doi:10.1056/NEJMoa1612645
253. Tutt ANJ, Garber JE, Kaufman B, Viale G, Fumagalli D, Rastogi P, et al. Adjuvant Olaparib for Patients with BRCA1- or BRCA2-Mutated Breast Cancer. *N Engl J Med.* 24 giugno 2021;384(25):2394–405. doi:10.1056/NEJMoa2105215 PubMed PMID: 34081848; PubMed Central PMCID: PMC9126186.
254. Impact of follow-up testing on survival and health-related quality of life in breast cancer patients. A multicenter randomized controlled trial. The GIVIO Investigators. *JAMA.* 25 maggio 1994;271(20):1587–92. doi:10.1001/jama.1994.03510440047031 PubMed PMID: 8182811.
255. Moschetti I, Cinquini M, Lambertini M, Levaggi A, Liberati A. Follow-up strategies for women treated for early breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 27 maggio 2016;2016(5):CD001768.

doi:10.1002/14651858.CD001768.pub3 PubMed PMID: 27230946; PubMed Central PMCID: PMC7073405.

256. Rockson SG, Keeley V, Kilbreath S, Szuba A, Towers A. Cancer-associated secondary lymphoedema. *Nat Rev Dis Primer*. 28 marzo 2019;5(1):22. doi:10.1038/s41572-019-0072-5
257. Na CB, Rm K, N K, O G, A L, Y G, et al. Impact of Axillary Lymph Node Dissection and Sentinel Lymph Node Biopsy on Upper Limb Morbidity in Breast Cancer Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Ann Surg*. 4 gennaio 2023;277(4). doi:10.1097/SLA.0000000000005671 PubMed PMID: 35946806.
258. Rachner TD, Coleman R, Hadji P, Hofbauer LC. Bone health during endocrine therapy for cancer. *Lancet Diabetes Endocrinol*. novembre 2018;6(11):901–10. doi:10.1016/S2213-8587(18)30047-0 PubMed PMID: 29572126.
259. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Aromatase inhibitors versus tamoxifen in early breast cancer: patient-level meta-analysis of the randomised trials. *Lancet*. 3 ottobre 2015;386(10001):1341–52. doi:10.1016/S0140-6736(15)61074-1 PubMed PMID: 26211827.
260. Gnant M, Pfeiler G, Dubsy PC, Hubalek M, Greil R, Jakesz R, et al. Adjuvant denosumab in breast cancer (ABCSG-18): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 1 agosto 2015;386(9992):433–43. doi:10.1016/S0140-6736(15)60995-3 PubMed PMID: 26040499.
261. Hadji P, Bundred N. Reducing the risk of cancer treatment-associated bone loss in patients with breast cancer. *Semin Oncol*. dicembre 2007;34(6 Suppl 4):S4-10. doi:10.1053/j.seminoncol.2007.10.005 PubMed PMID: 18068489.
262. Bastiaannet E, Liefers GJ, de Craen AJM, Kuppen PJK, van de Water W, Portielje JEA, et al. Breast cancer in elderly compared to younger patients in the Netherlands: stage at diagnosis, treatment and survival in 127,805 unselected patients. *Breast Cancer Res Treat*. dicembre 2010;124(3):801–7. doi:10.1007/s10549-010-0898-8 PubMed PMID: 20428937.
263. Mohile SG, Mohamed MR, Xu H, Culakova E, Loh KP, Magnuson A, et al. Evaluation of geriatric assessment and management on the toxic effects of cancer treatment (GAP70+): a cluster-randomised study. *Lancet*. 20 novembre 2021;398(10314):1894–904. doi:10.1016/S0140-6736(21)01789-X PubMed PMID: 34741815; PubMed Central PMCID: PMC8647163.
264. Kunkler IH, Williams LJ, Jack WJL, Cameron DA, Dixon JM. Breast-Conserving Surgery with or without Irradiation in Early Breast Cancer. *N Engl J Med*. 15 febbraio 2023;388(7):585–94. doi:10.1056/NEJMoa2207586
265. Hickey BE, Lehman M, Francis DP, See AM. Partial breast irradiation for early breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;(7). doi:10.1002/14651858.CD007077.pub3
266. Barnieh FM, Morton J, Olanrewaju O, El-Khamisy SF. Decoding the adaptive survival mechanisms of breast cancer dormancy. *Oncogene*. ottobre 2025;44(40):3759–73. doi:10.1038/s41388-025-03529-3
267. Ec K, SI F, M R, I M, M BA. Microenvironmental Regulation of Dormancy in Breast Cancer Metastasis: «An Ally that Changes Allegiances». *Adv Exp Med Biol*. 2025;1464. doi:10.1007/978-3-031-70875-6_18 PubMed PMID: 39821034.

268. Wapnir IL, Anderson SJ, Mamounas EP, Geyer CE, Jeong JH, Tan-Chiu E, et al. Prognosis after ipsilateral breast tumor recurrence and locoregional recurrences in five National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project node-positive adjuvant breast cancer trials. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 maggio 2006;24(13):2028–37. doi:10.1200/JCO.2005.04.3273 PubMed PMID: 16648502.
269. Pienta KJ, Hammarlund EU, Axelrod R, Amend SR, Brown JS. Convergent Evolution, Evolving Evolvability, and the Origins of Lethal Cancer. *Mol Cancer Res MCR*. giugno 2020;18(6):801–10. doi:10.1158/1541-7786.MCR-19-1158 PubMed PMID: 32234827; PubMed Central PMCID: PMC7272288.
270. Garemlilla SSS, Kadambala MC, Gampa SC, Chinthala S, Garimella SV. Cancer Metastasis: Therapeutic Challenges and Opportunities. *Med Oncol*. 16 ottobre 2025;42(11):518. doi:10.1007/s12032-025-03072-x PubMed PMID: 41100010.
271. Tsujimoto M, Nakabayashi K, Yoshidome K, Kaneko T, Iwase T, Akiyama F, et al. One-step nucleic acid amplification for intraoperative detection of lymph node metastasis in breast cancer patients. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 15 agosto 2007;13(16):4807–16. doi:10.1158/1078-0432.CCR-06-2512 PubMed PMID: 17699859.
272. Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res*. 15 giugno 2000;28(12):e63. doi:10.1093/nar/28.12.e63
273. Shimazu K, Tanei T, Tamaki Y, Saeki T, Osaki A, Hasebe T, et al. Performance of a new system using a one-step nucleic acid amplification assay for detecting lymph node metastases in breast cancer. *Med Oncol*. 6 maggio 2019;36(6):54. doi:10.1007/s12032-019-1277-x PubMed PMID: 31062258.
274. Schem C, Maass N, Bauerschlag DO, Carstensen MH, Löning T, Roder C, et al. One-step nucleic acid amplification-a molecular method for the detection of lymph node metastases in breast cancer patients; results of the German study group. *Virchows Arch Int J Pathol*. febbraio 2009;454(2):203–10. doi:10.1007/s00428-008-0703-9 PubMed PMID: 19101726.
275. Tamaki Y, Akiyama F, Iwase T, Kaneko T, Tsuda H, Sato K, et al. Molecular detection of lymph node metastases in breast cancer patients: results of a multicenter trial using the one-step nucleic acid amplification assay. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 15 aprile 2009;15(8):2879–84. doi:10.1158/1078-0432.CCR-08-1881 PubMed PMID: 19351770.
276. Feldman S, Krishnamurthy S, Gillanders W, Gittleman M, Beitsch PD, Young PR, et al. A novel automated assay for the rapid identification of metastatic breast carcinoma in sentinel lymph nodes. *Cancer*. 15 giugno 2011;117(12):2599–607. doi:10.1002/cncr.25822 PubMed PMID: 21226034; PubMed Central PMCID: PMC4419863.
277. Shi F, Zhang Q, Liang Z, Zhang M, Liu X. One-step nucleic acid amplification assay is an accurate technique for sentinel lymph node biopsy of breast cancer patients: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 10 ottobre 2017;117(8):1185–91. doi:10.1038/bjc.2017.262 PubMed PMID: 28797030; PubMed Central PMCID: PMC5674095.
278. Shi F, Liang Z, Zhang Q, Wang C, Liu X. The performance of one-step nucleic acid amplification assay for intraoperative detection of sentinel lymph node macrometastasis in breast cancer: An updated meta-analysis. *The Breast*. 1 giugno 2018;39:39–45. doi:10.1016/j.breast.2018.03.005 PubMed PMID: 29574393.

279. Liu M, Wang W, Wang Y. The diagnostic performance of the one-step nucleic acid amplification assay for the detection of sentinel lymph node metastases in cytokeratin 19-positive breast cancer: a PRISMA-compliant meta-analysis. *Front Med*. 2024;11:1391621. doi:10.3389/fmed.2024.1391621 PubMed PMID: 39314227; PubMed Central PMCID: PMC11416989.
280. Osako T, Iwase T, Kimura K, Yamashita K, Horii R, Yanagisawa A, et al. Intraoperative molecular assay for sentinel lymph node metastases in early stage breast cancer: a comparative analysis between one-step nucleic acid amplification whole node assay and routine frozen section histology. *Cancer*. 1 ottobre 2011;117(19):4365–74. doi:10.1002/cncr.26060 PubMed PMID: 21437889.
281. Le Frère-Belda MA, Bats AS, Gillaizeau F, Poulet B, Clough KB, Nos C, et al. Diagnostic performance of one-step nucleic acid amplification for intraoperative sentinel node metastasis detection in breast cancer patients. *Int J Cancer*. 15 maggio 2012;130(10):2377–86. doi:10.1002/ijc.26291 PubMed PMID: 21780107.
282. van Haaren ERM, Poodt IGM, Spiekerman van Weezenburg MA, van Bastelaar J, Janssen A, de Vries B, et al. Impact of analysis of the sentinel lymph node by one-step nucleic acid amplification (OSNA) compared to conventional histopathology on axillary and systemic treatment: data from the Dutch nationwide cohort of breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*. novembre 2023;202(2):245–55. doi:10.1007/s10549-023-07065-0 PubMed PMID: 37495799; PubMed Central PMCID: PMC10505596.
283. Hintzen KFH, de Rooij L, Schouten N, van Bastelaar J, Cörvers S a. J, Janssen A, et al. Molecular analysis of sentinel lymph nodes in patients with breast cancer using one-step nucleic acid amplification (OSNA): Does not lead to overtreatment in the current era of de-escalating axillary management. *Surg Oncol*. dicembre 2020;35:224–8. doi:10.1016/j.suronc.2020.09.010 PubMed PMID: 32932218.
284. Bertozzi S, Londero AP, Bulfoni M, Seriau L, Agakiza D, Pasqualucci A, et al. One-Step Nucleic Acid Amplification System in Comparison to the Intraoperative Frozen Section and Definitive Histological Examination Among Breast Cancer Patients: A Retrospective Survival Study. *Front Oncol*. 2022;12:847858. doi:10.3389/fonc.2022.847858 PubMed PMID: 35664761; PubMed Central PMCID: PMC9158526.
285. Klingler S, Marchal F, Rauch P, Kenouchi O, Chrétien AS, Genin P, et al. Using one-step nucleic acid amplification (OSNA) for intraoperative detection of lymph node metastasis in breast cancer patients avoids second surgery and accelerates initiation of adjuvant therapy. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. settembre 2013;24(9):2305–9. doi:10.1093/annonc/mdt160 PubMed PMID: 23661291.
286. Safari D, Razi S, Rezaei N. Intraoperative detection of axillary metastasis of breast cancer using nucleic acid amplification methods: review of advantages and limitations. *Expert Rev Mol Diagn*. luglio 2025;25(7):385–94. doi:10.1080/14737159.2025.2511811 PubMed PMID: 40411425.
287. Horimoto Y, Tanabe M, Kazuno S, Miura Y, Mogushi K, Sonoue H, et al. Elucidation of inhibitory effects on metastatic sentinel lymph nodes of breast cancer during One-Step Nucleic Acid Amplification. *Sci Rep*. 15 maggio 2018;8:7563. doi:10.1038/s41598-018-25911-w PubMed PMID: 29765119; PubMed Central PMCID: PMC5954024.
288. Alvarenga CA, Paravidino PI, Alvarenga M, Dufloth R, Gomes M, Zeferino LC, et al. Expression of CK19 in invasive breast carcinomas of special histological types: implications for the use of one-step nucleic acid amplification. *J Clin Pathol*. giugno 2011;64(6):493–7. doi:10.1136/jcp.2011.089862 PubMed PMID: 21427448.

289. Vilardell F, Novell A, Martin J, Santacana M, Velasco A, Díez-Castro MJ, et al. Importance of assessing CK19 immunostaining in core biopsies in patients subjected to sentinel node study by OSNA. *Virchows Arch Int J Pathol.* giugno 2012;460(6):569–75. doi:10.1007/s00428-012-1241-z PubMed PMID: 22555942; PubMed Central PMCID: PMC3371326.
290. Takamoto K, Shimazu K, Naoi Y, Shimomura A, Shimoda M, Kagara N, et al. One-Step Nucleic Acid Amplification Assay for Detection of Axillary Lymph Node Metastases in Breast Cancer Patients Treated with Neoadjuvant Chemotherapy. *Ann Surg Oncol.* gennaio 2016;23(1):78–86. doi:10.1245/s10434-015-4693-y PubMed PMID: 26152274.
291. Tiernan JP, Verghese ET, Nair A, Pathak S, Kim B, White J, et al. Systematic review and meta-analysis of cytokeratin 19-based one-step nucleic acid amplification versus histopathology for sentinel lymph node assessment in breast cancer. *Br J Surg.* marzo 2014;101(4):298–306. doi:10.1002/bjs.9386 PubMed PMID: 24536007.
292. Huxley N, Jones-Hughes T, Coelho H, Snowsill T, Cooper C, Meng Y, et al. A systematic review and economic evaluation of intraoperative tests [RD-100i one-step nucleic acid amplification (OSNA) system and Metasin test] for detecting sentinel lymph node metastases in breast cancer. *Health Technol Assess.* gennaio 2015;19(2):v–xxv, 1–215. doi:10.3310/hta19020 PubMed PMID: 25586547; PubMed Central PMCID: PMC4781263.
293. Babar M, Madani R, Thwaites L, Jackson PA, Devalia HL, Chakravorty A, et al. A differential intra-operative molecular biological test for the detection of sentinel lymph node metastases in breast carcinoma. An extended experience from the first U.K. centre routinely offering the service in clinical practice. *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol.* marzo 2014;40(3):282–8. doi:10.1016/j.ejso.2013.10.030 PubMed PMID: 24331309.
294. Chaudhry A, Williams S, Cook J, Jenkins M, Sohail M, Calder C, et al. The real-time intra-operative evaluation of sentinel lymph nodes in breast cancer patients using One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA) and implications for clinical decision-making. *Eur J Surg Oncol EJSO.* 1 febbraio 2014;40(2):150–7. doi:10.1016/j.ejso.2013.12.007
295. Bernet L, Piñero A, Martínez M, Sicart SV, Algara M, Palomares E. Consenso de la Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria (SESPM) sobre la biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC) y el manejo axilar en el cáncer de mama (2022). *Rev Senol Patol Mamar.* 1 ottobre 2022;35(4):243–59. doi:10.1016/j.senol.2022.07.002
296. Harbeck N, Kreipe H, Sinn HP. Diagnosis and Treatment of Patients with Early and Advanced Breast Cancer – Pathology [AGO Guidelines Breast] [Internet]. Munich, Germany: Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie (AGO) e.V., in der DGGG e.V. sowie in der DKG e.V.; 2024 [citato 1 maggio 2026]. AGO Guidelines Breast Version 2024.1E. Disponibile su: https://www.ago-online.de/fileadmin/ago-online/downloads/_leitlinien/kommission_mamma/2024/englisch/Einzeldateien/AGO_2024E_04_Pathology.pdf
297. Borstkanker [Internet]. [citato 24 giugno 2026]. Disponibile su: https://richtlijnendatabase.nl/richtlijn/borstkanker/pathologie/borstkanker_-_stadi_ring.html
298. Li K, Meng M, Zhang W, Li J, Wang Y, Zhou C. Diagnostic value of one-step nucleic acid amplification for sentinel lymph node metastasis in cytokeratin 19-positive tumors: evidence from bioinformatics and meta-analysis. *Front Oncol.* 2024;14:1370709. doi:10.3389/fonc.2024.1370709 PubMed PMID: 38651158; PubMed Central PMCID: PMC11033366.

299. Peg V, Espinosa-Bravo M, Vieites B, Vilardell F, Antúnez JR, de Salas MS, et al. Intraoperative molecular analysis of total tumor load in sentinel lymph node: a new predictor of axillary status in early breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* maggio 2013;139(1):87–93. doi:10.1007/s10549-013-2524-z PubMed PMID: 23576079.
300. Rubio IT, Espinosa-Bravo M, Rodrigo M, Amparo Viguri Diaz M, Hardisson D, Sagasta A, et al. Nomogram including the total tumoral load in the sentinel nodes assessed by one-step nucleic acid amplification as a new factor for predicting nonsentinel lymph node metastasis in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* settembre 2014;147(2):371–80. doi:10.1007/s10549-014-3108-2 PubMed PMID: 25164972.
301. Teramoto A, Shimazu K, Naoi Y, Shimomura A, Shimoda M, Kagara N, et al. One-step nucleic acid amplification assay for intraoperative prediction of non-sentinel lymph node metastasis in breast cancer patients with sentinel lymph node metastasis. *Breast.* ottobre 2014;23(5):579–85. doi:10.1016/j.breast.2014.05.026 PubMed PMID: 24973902.
302. Nabais C, Figueiredo J, Lopes P, Martins M, Araújo A. Total tumor load assessed by one-step nucleic acid amplification assay as an intraoperative predictor for non-sentinel lymph node metastasis in breast cancer. *The Breast.* 1 aprile 2017;32:33–6. doi:10.1016/j.breast.2016.12.011
303. Shimazu K, Sato N, Ogiya A, Sota Y, Yotsumoto D, Ishikawa T, et al. Intraoperative Nomograms, Based on One-Step Nucleic Acid Amplification, for Prediction of Non-sentinel Node Metastasis and Four or More Axillary Node Metastases in Breast Cancer Patients with Sentinel Node Metastasis. *Ann Surg Oncol.* settembre 2018;25(9):2603–11. doi:10.1245/s10434-018-6633-0 PubMed PMID: 29978372; PubMed Central PMCID: PMC6097722.
304. Sa-nguanraksa D, O-charoenrat E, Kulprom A, Samarnthai N, Lohsiriwat V, Nimpoonsri K, et al. Nomogram to predict non-sentinel lymph node status using total tumor load determined by one-step nucleic acid amplification: first report from Thailand. *Breast Cancer.* 1 luglio 2019;26(4):471–7. doi:10.1007/s12282-019-00945-8
305. Espinosa-Bravo M, Sansano I, Pérez-Hoyos S, Ramos M, Sancho M, Xercavins J, et al. Prediction of non-sentinel lymph node metastasis in early breast cancer by assessing total tumoral load in the sentinel lymph node by molecular assay. *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol.* luglio 2013;39(7):766–73. doi:10.1016/j.ejso.2013.03.011 PubMed PMID: 23607911.
306. Fung V, Kohlhardt S, Vergani P, Zardin GJ, Williams NR. Intraoperative prediction of the two axillary lymph node macrometastases threshold in patients with breast cancer using a one-step nucleic acid cytokeratin-19 amplification assay. *Mol Clin Oncol.* novembre 2017;7(5):755–62. doi:10.3892/mco.2017.1404 PubMed PMID: 29142748; PubMed Central PMCID: PMC5666659.
307. Deambrogio C, Castellano I, Paganotti A, Zorini EO, Corsi F, Bussone R, et al. A new clinical cut-off of cytokeratin 19 mRNA copy number in sentinel lymph node better identifies patients eligible for axillary lymph node dissection in breast cancer. *J Clin Pathol.* agosto 2014;67(8):702–6. doi:10.1136/jclinpath-2014-202384 PubMed PMID: 24906358.
308. Fougo JL, Amendoeira I, Brito MJ, Correia AP, Gonçalves A, Honavar M, et al. Sentinel node total tumour load as a predictive factor for non-sentinel node status in early breast cancer patients - The porttelle study. *Surg Oncol.* marzo 2020;32:108–14. doi:10.1016/j.suronc.2019.11.008 PubMed PMID: 31987574.
309. Tomasicchio G, Mastropasqua MG, Picciariello A, Montanaro AE, Signorile D, Cirilli A, et al. A New Possible Cut-Off of Cytokeratin 19 mRNA Copy Number by OSNA in the Sentinel Node of Breast

Cancer Patients to Avoid Unnecessary Axillary Dissection: A 10-Year Experience in a Tertiary Breast Unit. *Cancers*. 12 luglio 2022;14(14):3384. doi:10.3390/cancers14143384 PubMed PMID: 35884447; PubMed Central PMCID: PMC9318019.

310. Osako T, Iwase T, Ushijima M, Yonekura R, Ohno S, Akiyama F. A new molecular-based lymph node staging classification determines the prognosis of breast cancer patients. *Br J Cancer*. 7 novembre 2017;117(10):1470–7. doi:10.1038/bjc.2017.311 PubMed PMID: 28910822; PubMed Central PMCID: PMC5680460.
311. Osako T, Matsuura M, Yotsumoto D, Takayama S, Kaneko K, Takahashi M, et al. A prediction model for early systemic recurrence in breast cancer using a molecular diagnostic analysis of sentinel lymph nodes: A large-scale, multicenter cohort study. *Cancer*. 15 maggio 2022;128(10):1913–20. doi:10.1002/cncr.34144 PubMed PMID: 35226357; PubMed Central PMCID: PMC9311203.
312. Riley RD, Hayden JA, Steyerberg EW, Moons KGM, Abrams K, Kyzas PA, et al. Prognosis Research Strategy (PROGRESS) 2: prognostic factor research. *PLoS Med*. 2013;10(2):e1001380. doi:10.1371/journal.pmed.1001380 PubMed PMID: 23393429; PubMed Central PMCID: PMC3564757.

RINGRAZIAMENTI

Desidero ringraziare di cuore il prof. Federico Piacentini, che mi ha accolto con grande generosità come tesista e ha avuto cura di assegnarmi un argomento di tesi in linea con i miei interessi più analitici, finendo per appassionarmi davvero, e che ha sempre mantenuto un occhio vigile sulla stesura.

Ringrazio anche il mio tutor, il dottor Luca Moscetti, innanzitutto per avermi aiutato a individuare i reparti in cui recarmi per la raccolta dei dati, e poi per la pazienza dimostrata, fino a mettermi spesso a disposizione il suo computer personale nel suo ufficio.

A questo proposito, un ringraziamento doveroso va anche agli specializzandi della Scuola di Oncologia in rotazione al Policlinico, che mi hanno accolto con disponibilità nella loro sala lavoro quando avevo bisogno delle ultime ore per chiudere il database, e che con gentilezza hanno risolto i miei dubbi dell'ultimo minuto.

Ringrazio inoltre la Struttura Complessa di Anatomia e Istologia Patologica, che mi ha permesso di raccogliere i dati istologici, parte tanto cruciale di questo studio; in particolare la dottoressa Elena Zunarelli e il dottor Alberto Lugli, che mi hanno accordato l'accesso ai referti patologici del tumore della mammella.

Un ringraziamento speciale va alle tecniche di laboratorio Ilaria Marchetti, Stefania Zaccarelli e Tania Poggi, che con grande prontezza e cordialità mi hanno aiutato a comprendere il funzionamento dello strumento di analisi e mi hanno spiegato come consultare il database informatico per accedere ai referti. Senza di loro, probabilmente, non sarebbe stato possibile raccogliere i dati di questa tesi.

Un ringraziamento particolare ai miei genitori e alle mie sorelle, ai miei zii e agli amici che non si sono tirati indietro nell'accompagnarmi lungo questo percorso non sempre lineare; al mio gruppo scout e ai miei compagni di università, di biblioteca e del SISM, che hanno reso più sopportabili tante sessioni di studio. Un grazie all'Università di Medicina di Modena, che mi ha permesso un percorso davvero ricco in questi soli tre anni.

Come si leggeva nella sala d'aspetto dell'Ortopedia dell'Ospedale di Suzzara, dove mi sono operato a entrambe le gambe, "non esiste albero che non sia stato sbattuto dal vento". In effetti sono stato sbattuto anch'io, ma alla fine ce l'abbiamo fatta.

