



Artículo Científico

Evaluación del Riesgo, Tamizaje, Diagnóstico Clínico – Patológico y Estadificación del Cáncer de Mama: 1er Consenso Nacional del Cáncer de Mama de la Sociedad Panameña de Oncología (SPO)

Risk Assessment, Screening, Clinical - Pathological Diagnosis and Staging of Breast Cancer: 1st National Consensus of Breast Cancer of the Panamanian Society of Oncology (SPO)

Moreno Joel*, M. Vergara Ruth**, Tapia Héctor***, Admadé Bleixen G.****, El Achtar Olivia*****, Crismatt. Alejandro*.

* Servicio de Oncología Médica, Instituto Oncológico Nacional (ION), Panamá. ** Servicio de Patología, Instituto Oncológico Nacional (ION), Panamá. *** Servicio de Radiología, Instituto Oncológico Nacional (ION), Panamá. **** Servicio de Ginecología Oncológica, (Instituto Oncológico Nacional), Panamá. ***** Residente del Servicio de Cirugía Oncológica, Instituto Oncológico Nacional (ION), Panamá.

Palabras claves: cáncer de mama, tamizaje, factores de riesgo.

Key words: Breast cancer, screening, risk factors.

Correspondencia a:
Dr. Joel Moreno.

Correo electrónico:
joelmoreno80@gmail.com

Los autores han declarado que no existe conflicto de interés con la publicación del presente trabajo.

El autor declara haber obtenido consentimiento informado de todo paciente participante. Los autores declaran autogestión como fuente de financiamiento.

Resumen

El cáncer de Mama es el tumor más frecuente de la mujer y su incidencia va en aumento. En la atención primaria del paciente, se debe establecer el riesgo de padecer cáncer de mama durante la vida, a través de una historia clínica orientada a los factores de riesgo familiares e individuales, de tal forma que podamos implementar las estrategias de tamizaje apropiadas. Las estrategias de tamizaje deben ser aplicadas de manera sistemáticas, y los resultados anormales referidos a un centro con experiencia en el diagnóstico. Los pacientes diagnosticados deben ser evaluados por un equipo multidisciplinario con experiencia en el manejo de la muestra, estadificación y tratamiento del cáncer de mama.

Summary

Breast cancer is the most frequent tumor in women and its incidence is increasing. In the primary care of the patient, the risk of suffering from breast cancer should be established during life, through a clinical history focused on family and individual risk factors, in such a way that we can implement the appropriate screening strategies. Screening strategies should be applied systematically, and abnormal results referred to a center with experience in diagnosis. Patients diagnosed should be evaluated by a multidisciplinary team with experience in the management of the sample, staging and treatment of breast cancer.

Valoración del Riesgo

1.a. ¿Cómo se realiza la valoración del riesgo de cáncer de mama?

La valoración del riesgo individual de padecer cáncer de mama es importante en la elección de la estrategia de tamizaje. En base a los factores de riesgo, las mujeres se clasifican en población de riesgo promedio y riesgo alto. Se estima que 1 de cada 8 mujeres padecerá cáncer de mama en algún momento de su vida. Esto representa un riesgo basal del 12.4%, y es lo que denominamos población de riesgo promedio [1].

Adicional a este riesgo promedio, hay que tomar en cuenta el efecto que los diversos factores de riesgo y protectores aportan, para determinar el riesgo-beneficio de las intervenciones de tamizaje, y otras estrategias como las cirugías reductoras de riesgo y la quimio-prevención.

Se reconocen como factores de riesgo:

-Clínicos: edad, historia familiar de cáncer de mama y ovario, hiperplasia ductal/lobulillar atípica, carcinoma lobulillar in situ, antecedente de irradiación torácica (<30 años), elevada densidad mamaria [1-6].

-Genéticos: mutaciones en los genes BRCA1/2,7 TP53, PTEN, CDH1 [2,3].

-Reproductivos: menarquia temprana, menopausia tardía, baja o nuliparidad, primer parto a edad avanzada, terapia de reemplazo hormonal, ausencia de lactancia materna [4,5].

Un listado de los principales factores de riesgo se presenta en la Tabla 1. Existen herramientas y modelos matemáticos como el modelo de Gail, BCRAT (Breast Cancer Risk Assessment Tool), BRCAPRO, BOADICEA, entre otros; que permiten calcular el riesgo de padecer cáncer invasivo de mama de acuerdo a sus factores de riesgo. Se debe estar familiarizado con las indicaciones y limitaciones de cada uno de estos modelos [11-13].

Se define como población de alto riesgo aquellas pacientes con mutaciones genéticas que predispongan a cáncer de mama (BRCA 1, BRCA 2, TP53, PTEN, etc), riesgo de cáncer de mama $\geq 20\%$ durante la vida, riesgo $\geq 1.7\%$ a 5 años según el índice modificado de Gail (<https://www.cancer.gov/bcrisktool/>), antecedente de radiación ionizante torácica en los últimos 10-30 años, antecedente de carcinoma lobulillar in situ o hiperplasia atípica [6].

1. b: Recomendaciones

1. b.1: Realizar la valoración del riesgo individual para cada paciente de padecer cáncer de mama, con el objetivo de clasificarla como: población de riesgo promedio o población de alto riesgo (21 votos a Favor/0 en contra).

Tamizaje

2. a: ¿Cuáles son las estrategias e intervalos de tamizaje en la población de riesgo promedio?

Múltiples estudios han demostrado que el tamizaje con mamografía reduce en un 15-30% el riesgo relativo de muerte por cáncer de mama en la población de riesgo promedio [1,15-17]. Este beneficio está ampliamente demostrado y aceptado en el grupo etario de 50 a 69 años, en quienes la elevada incidencia de la enfermedad y significativa reducción de la mortalidad permite recomendar la mamografía como estrategia de tamizaje. [18,19]

En las mujeres de 40 a 49 años, la evidencia sobre la efectividad del tamizaje con mamografía es limitada y controversial. [17-19] Diversas organizaciones consideran que la decisión de iniciar el tamizaje con mamografía a los 40 años debe individualizarse, luego de una discusión de los riesgos beneficios y consentimiento informado de cada paciente. En nuestro país hay que tomar en cuenta que no existen datos nacionales publicados sobre cobertura de la mamografía, y el porcentaje de mujeres diagnosticadas antes de los 50 años y en estadios avan-

Tabla 1. Factores de riesgo para cáncer de mama

Riesgo relativo	Factor
> 4.0	-Mutaciones genéticas de riesgo para cáncer de mama (BRCA1/2, otras) -Hiperplasia atípica o hiperplasia lobulillar o carcinoma lobulillar in situ -Historia personal de cáncer de mama a edad temprana (< 40 años) -Dos o más familiares de primer grado con diagnóstico de cáncer de mama diagnosticado a edad temprana -Radiación terapéutica al tórax < 30 años -Elevada densidad mamaria
2.1-4.0	-Historia personal de cáncer de mama (≤ 40 años) -Familiar de primer grado con antecedente de cáncer de mama
1.1-2.0	-Paridad tardía (> 30 años) o nuliparidad -Menarquia temprana (≤ 12 años) o menopausia tardía (> 55 años) -Terapia de reemplazo hormonal combinada (por 10 años o más) -Obesidad post-menopáusica -Consumo de alcohol -Tabaquismo -Sedentarismo

zados es mayor que la de los países desarrollados [7]. Por lo anterior, parece razonable iniciar el tamizaje a los 40 años.

Las pacientes de 70 años o más no fueron incluidas en los estudios aleatorizados que evaluaron el beneficio del tamizaje con mamografía, por lo que la evidencia en este grupo se basa en estudios observacionales con resultados contradictorios [19-21]. La mayoría de las organizaciones consideran continuar el tamizaje con mamografía en aquellas pacientes de 70 años o más en buen estado general, con comorbilidades medicamente controladas, y que tengan una expectativa de vida mayor a 10 años [22-24].

El intervalo de tiempo al cual debe realizarse el tamizaje con mamografía también es tema de discusión. La evidencia existente demuestra que la estrategia de tamizaje en que mejor balance existe entre los riesgos y los beneficios es con mamografía cada 2 años [8]. A pesar de lo anterior, muchas organizaciones siguen recomendado la mamografía de tamizaje de manera anual, por lo que la decisión del intervalo de tamizaje debe basarse en una discusión con la paciente.

Existen variantes de la mamografía que han evidenciado igual efectividad como estrategia de tamizaje, como la mamografía digital o la tomo-síntesis digital mamaria [26,27]. El ultrasonido mamario +/- mamografía mejora las tasas de detección en pacientes con tejido mamario denso a expensas de aumentar los falsos positivos. [28,29] Al momento no hay evidencia que sustente el uso del ultrasonido mamario como estrategia única de tamizaje.

El autoexamen de mama no ha demostrado disminuir la mortalidad por cáncer de mama, a pesar de haber sido evaluada en múltiples estudios [30-33]. No debe recomendarse el autoexamen de mama como estrategia de tamizaje, sin embargo, varias organizaciones recomien-

dan que debe educarse a las pacientes sobre esta estrategia como parte de su autocuidado.

2.a: Recomendaciones

2.a.1: Se recomienda la mamografía de tamizaje en las mujeres de 40-69 años, cada uno a dos años. En las mujeres mayores de 70 años con buen estado funcional, comorbilidades médicamente controladas, y expectativa de vida mayor de 10 años, puede considerarse continuar la intervención (27 votos a favor/0 en contra).

2.a.2: No se recomienda el autoexamen de mama como estrategia de tamizaje. Se puede instruir a las pacientes sobre la técnica del autoexamen de mama como parte de su autocuidado. No hay evidencia para recomendar el ultrasonido de mama como estrategia única de tamizaje (18 votos a favor/5 en contra).

2.b: ¿Cuáles son las estrategias e intervalos de tamizaje en la población de Alto Riesgo?

Las recomendaciones de tamizaje en la población de alto riesgo derivan de los estudios realizados en pacientes con mutaciones de los genes BRCA; en dicha población, la secuencia de mamografía y resonancia magnética de mama aumenta las tasas de detección y diagnóstico en estadios más tempranos, al compararlo con la mamografía sola. A pesar de las ventajas de la secuencia Mamografía/resonancia, no se ha podido demostrar disminución de la mortalidad por cáncer de mama en esta población, debido en parte a la dificultad de reclutar pacientes para estudios aleatorizados grandes [6,9]. Aunque no hay evidencia específica sobre el tamizaje con resonancia magnética de mama en otras poblaciones de alto riesgo, diversas asociaciones consideran prudente ofrecerla como parte de los programas de tamizaje en este grupo de pacientes [6].

En las pacientes portadoras de mutaciones BRCA1/BRCA2 se recomienda iniciar el autocuidado de la mama a partir de los 18 años, examen clínico cada 6 a 12 meses, iniciar mamografía anual y resonancia magnética de mama anual (alternadas) a los 25 años, discusión sobre cirugías reductoras de riesgo y quimio-prevención. En las pacientes de alto riesgo por antecedentes familiares se debe iniciar tamizaje 10 años antes de la edad de diagnóstico más temprano de su familiar [6].

2.b: Recomendaciones

2.b.1: En las pacientes portadoras de mutaciones en BRCA1/BRCA 2 se debe iniciar autocuidado a los 18 años, examen clínico de la mama cada 6 a 12 meses, mamografía anual alternada con resonancia de mama anual a partir de los 25 años, discusión sobre cirugía reductoras de riesgo y quimio-prevención. En otras poblaciones de alto riesgo se puede considerar el tamizaje con mamografía anual alternada con resonancia de mama anual. (26 votos a favor/2 en contra).

Diagnóstico

3.a. ¿Cuál es el abordaje diagnóstico que se debe seguir? Para realizar el diagnóstico de cáncer de mama se re-

quiere de una evaluación clínica, estudios imagenológicos y el reporte histopatológico. La evaluación clínica consiste en la palpación bimanual bilateral de las mamas, ganglios linfáticos axilares y cervicales. Los estudios de imágenes deben incluir mamografía y ultrasonido de mama y axila [10]. La resonancia magnética de la mama no es rutinaria, está indicada en casos de pacientes de alto riesgo, presencia de implantes mamarios, sospecha de multicentricidad o multifocalidad, histología lobulillar, discrepancias entre la evaluación clínica y la mamografía/ultrasonido de mama. También puede realizarse previo a tratamientos preoperatorios, o como valoración de respuesta a los mismos [36,37].

El diagnóstico histopatológico del cáncer de mama debe basarse en biopsia por aguja gruesa, la cual permite realizar la evaluación histológica y la determinación de biomarcadores por inmunohistoquímica [11]. Este procedimiento es preciso y costo efectivo al compararlo con la cirugía abierta como método de biopsia de lesiones sospechosas por clínica o imagen [40,41]. No se recomienda la utilización de biopsia y aspirado por aguja fina ya que esta muestra no brindará la información diagnóstica necesaria, además de presentar baja sensibilidad, especificidad, y alta tasa de falsos negativos. [12]. En caso de lesiones palpables, la biopsia por aguja gruesa debe realizarse guiada por ultrasonido, obteniendo al menos 6 especímenes (pases de aguja gruesa), para garantizar un diagnóstico histológico óptimo [11,13]. En caso de lesiones localizables y accesibles a la palpación, y en ausencia de un profesional capacitado o del equipo, la biopsia puede realizarse sin ultrasonido.

En caso de lesiones indeterminadas, solamente visualizadas por imágenes, las opciones para obtención de biopsia incluyen: biopsia estereotáctica, biopsia guiada por imagen, localización de lesión oculta radioguiada (ROLL), biopsia asistida por aspiración, localización a través de una grapa/clip [46-48]. La elección del abordaje dependerá de la experiencia y técnica disponible. Cuando se presentan lesiones no palpables o no es posible realizar biopsia por aguja gruesa guiada por imagen, debe realizarse una biopsia escisional guiada por aguja colocada por estereotaxia. Luego de realizar la biopsia escisional es esencial demostrar a través de una radiografía del espécimen que se removieron las microcalcificaciones sospechosas [14].

Si al examen clínico hay sospecha de adenopatías axilares debe realizarse como mínimo una biopsia y aspirado por aguja fija (BAAF), guiada por ultrasonido para determinar si se trata de ganglios inflamatorios o infiltrados por tumor. En esta ubicación anatómica la BAAF es el abordaje diagnóstico de preferencia debido a la cercanía con vasos y nervios, con una alta especificidad para la detección de infiltración tumoral [15].

3.a: Recomendaciones

3.a.1: El diagnóstico de cáncer de mama se basa en: evaluación clínica (mamas bilaterales y ganglios axilares y cervicales), estudios de imagen (mamografía, ultrasoni-

do de mamas y axila, resonancia magnética en casos seleccionados), y el reporte histopatológico (29 votos a favor/0 en contra).

3.a.2: Se recomienda que el método de obtención de la muestra sea por biopsia con aguja gruesa guiada por imágenes. El método de biopsia dependerá si la lesión es palpable o no, y de la disponibilidad de técnicas y personal capacitado (29 votos a favor/0 en contra).

3.a.3: En caso de ganglios sospechosos por radiología o al examen físico, se recomienda la realización de biopsia y aspirado con aguja fina (BAAF) (27 votos a favor/0 en contra).

3.b: ¿Qué consideraciones se deben tener al momento del diagnóstico histopatológico?

El diagnóstico histopatológico de carcinoma invasor de mama en los especímenes quirúrgicos (biopsias de corte, biopsias por escisión o tumorectomía), tiene como base determinar los factores que permitan anticipar el comportamiento biológico y planificar el tratamiento, por lo que el manejo adecuado de la muestra es de suma importancia [16].

El tiempo de isquemia fría debe ser menor a 1 hora, y la muestra debe ser fijada en formol tamponado al 10%. [52,53] Las biopsias y/o piezas operatorias deben ser remitidas al patólogo con datos de filiación (identificación, edad, etc.), lugar de la lesión (identificar el lado mamario y/o cuadrante), carácter de la lesión (nódulo, micro calcificaciones), clasificación BI-RADS y, de ser factible, la mamografía diagnóstica que motivó la realización de la biopsia.

En el servicio de patología se debe verificar los datos del envase y medir el volumen del formol que contiene la muestra para garantizar que quede sumergida en una proporción de 10:1 [17]. Las biopsias obtenidas por punción (Core, tru-cut, mammotome, etc.) deben ser incluidas en su totalidad colocando dos cilindros por cápsula (casete) y estudiadas con secciones histológicas teñidas con técnica de H&E. En el caso de piezas quirúrgicas, el cirujano debe orientar la pieza con identificación de márgenes quirúrgicos anatómicos. La pieza debe llegar íntegra, y sólo deben ser seccionadas por el patólogo o personal entrenado. Las piezas deben ser pesadas, medidas y teñidas según haya o no orientación del tejido por parte del cirujano. Luego de la descripción macroscópica, deben hacerse secciones a través del eje mayor separando el tejido con papel toalla o gasa, para mejorar la penetración de la formalina y así evitar la isquemia fría. Se debe colocar en un envase apropiado y fijarlo inmediatamente con formol tamponado al 10% con una proporción de 10:1, en donde debe permanecer entre 6 a 24 horas [18]. Pasadas las 24 horas de fijación, el tejido debe ser seccionado siguiendo las guías de manejo de muestra y tallar los fragmentos con un espesor no mayor a 3 mm para que sean infiltrados durante su procesamiento. Al momento de incluir el tejido para su procesamiento hay que incluir la zona de la lesión y la relación con los márgenes. Si el espécimen es pequeño se puede

incluir todo.

El informe histopatológico deberá incluir en el caso de carcinomas (invasor e in situ) las siguientes características: Tamaño del tumor, Tipo histológico, Grado histológico, presencia de émbolos linfo-vasculares, márgenes quirúrgicos, biomarcadores [56-58]. Se deben determinar el estatus de los receptores de estrógeno (RE), el receptor de progesterona (RP) y el receptor del factor del crecimiento epidérmico 2 (HER2) en el tumor primario y en las recurrencias o metástasis [59,60]. Estos biomarcadores son factores pronósticos y predictivos importantes en la toma de decisión terapéutica, por lo que están indicado realizarlos en todos los pacientes al momento del diagnóstico. Se deben utilizar clonas de anticuerpos validadas y la interpretación de la tinción debe hacerse por lo menos en dos cilindros de biopsia por aguja gruesa con al menos 60% de tejido neoplásico viable.

En cuanto a los receptores hormonales (RE y RP), la prueba de inmunohistoquímica (IHQ) se considerará positiva cuando haya al menos 1% de tinción nuclear. Se debe reportar el porcentaje de positividad [19]. La sobreexpresión del HER2 se evalúa por IHQ evaluando la tinción de la membrana citoplasmática y el porcentaje de células neoplásicas afectadas. Se reportará según las normas internacionales: positivo (3+), equivoco (2+) y negativo (0-1+). Cuando la prueba del HER2 por IHQ resulta equívoca (2+), se debe realizar una confirmación mediante la amplificación del gen HER2, utilizando técnica de hibridación in situ, ya sea fluorescente (FISH), tinción de plata (SISH) o tinción cromogénica (CISH). Se deben contar 40 o 20 núcleos de acuerdo con la tinción utilizada y se debe reportar según normas internacionales [20]. Estas pruebas deben ser solicitadas por el grupo multidisciplinario encargado del manejo definitivo del paciente y llevadas a cabo por laboratorios certificados.

3.b: Recomendaciones

3.b.1: Se deben tomar las medidas necesarias para el adecuado manejo de la muestra y así garantizar la calidad del diagnóstico. Esto inicia desde el momento de toma del tejido hasta la emisión del reporte histopatológico (26 votos a favor/1 en contra).

3.b.2: El reporte histopatológico debe incluir toda la información histopatológica (pronóstico y predictiva predictivo) necesaria para la toma de decisiones terapéuticas. Se favorece los reportes estructurados (30 votos a favor/0 en contra).

3.b.3: Al momento del diagnóstico, se deben solicitar los siguientes biomarcadores: receptor de estrógeno (RE), receptor de progesterona (RP) y receptores del factor de crecimiento epidérmico 2 (HER2) (31 votos a favor/0 en contra).

Estadificación

4.a: ¿Cómo se realiza la estadificación del cáncer de mama?

La estadificación se realiza a través del sistema TNM

(Clasificación del "American Joint Committee on Cancer - AJCC - y la International Union Against Cancer -UICC-) [21]. Este sistema se basa en la evaluación de la afectación local y regional a través de la evaluación clínica y los estudios imagenológicos ya discutidos en la sección de diagnóstico. Además, es necesario valorar la presencia de metástasis a distancia (hueso, hígado, pulmón, cerebro) de acuerdo con la etapa clínica.

En las etapas tempranas del cáncer de mama, la presencia de metástasis asintomáticas a distancia es infrecuente, por lo que no está indicado la realización de estudios de estadificación. Se solicitará laboratorios básicos: hemograma completo, pruebas de funciones renales y hepáticas, fosfatasa alcalina y calcio sérico.

Se deben indicar estudios de estadificación adicionales en las pacientes con [22].

- Tumores >5cm
- Afección ganglionar
- Histologías agresivas
- Signos o síntomas sugestivos de enfermedad a distancia (dolores óseos, elevación de pruebas de función hepática, fosfatasa alcalina o calcio, manifestaciones pulmonares o neurológicas).

Los estudios recomendados son:

- Tomografía de tórax (de no estar disponible reemplazar por radiografía de tórax)
- Tomografía o resonancia magnética abdominal (de no estar disponible reemplazar por ultrasonido abdominal)
- Centelleo óseo
- Resonancia de columna (sólo si hay sospecha clínica de compresión medular)
- Resonancia / tomografía cerebral (sólo si hay sospecha clínica de metástasis cerebrales. [65,66])

Si los resultados de los estudios iniciales no son concluyentes y persiste la sospecha de enfermedad a distancia, se puede solicitar un FDG-PET/CT. De lo contrario no debe utilizarse este estudio de rutina [67,68].

4.1: Recomendaciones

4.a.1: La estadificación del cáncer de mama se realiza en base a la octava edición del TNM (26 votos a favor/0 en contra).

4.a.2: En etapas tempranas del cáncer de mama no se recomienda realizar estudios de estadificación de rutina. Si hay sospecha clínica de enfermedad metastásica, realizar estudio dirigido (30 votos a favor/0 en contra).

4.a.3: En etapas localmente avanzadas se recomienda realizar estudios de estadificación: tomografía de tórax contrastada, tomografía o resonancia abdominal contrastada, centelleo óseo. Otros estudios dependerán de la sospecha clínica (30 votos a favor/0 en contra).

Consejería Genética

Se describe que el 10-15% de los casos de cánceres de

mama son consecuencia de mutaciones específicas en ciertos genes, en el contexto de los denominados síndromes hereditarios [69,74].

La evaluación del riesgo genético y la consejería genética son procesos estructurados que buscan identificar pacientes en riesgo de síndromes hereditarios. (Ver Tabla 2) El objetivo es educar a las pacientes sobre los factores genéticos, biológicos y ambientales relacionados con este riesgo alto de padecer cáncer de mama, y ayudarlas a tomar decisiones informadas sobre pruebas genéticas, tamizajes de alto riesgo, intervenciones reductoras de riesgo [23]. La consejería genética debe proveerla un médico genetista, oncólogo médico, cirujano oncólogo, enfermera oncóloga, u otro profesional de la salud con experiencia en la genética del cáncer. [24,25] En la tabla 3 se resumen las indicaciones para recomendar la consejería genética en una paciente sin cáncer de mama [23]. (Ver Tabla 3). La indicación de una prueba genética la valorará el consejero genético en base a las características personales y familiares de cada paciente, luego de tomar en cuenta los beneficios, limitaciones y riesgos.

5.1: Recomendación

5. a.1 Ofrecer evaluación del riesgo genético y consejería genética a pacientes con características que indican la posibilidad de un síndrome hereditario (30 votos a favor/0 en contra).

REFERENCIAS

- [1] Khan F, Agarwal A, and Agrawal D. Significance of chimerism hematopoietic stem cell transplantation: new variations on an old theme. *Bone Marrow Transplantation* (2004):34, 1-12.
- [2] Frankfurt U, Zitzner R, Tambur A. Real time qPCR for chimerism assessment in allogeneic hematopoietic stem cell transplants from unrelated adult and double umbilical cord blood. *Human Immunology* 2015;76:155-160
- [3] Clemente I, Goncalo C, Faria, M et. al. Relevance for Chimerism analysis after allogeneic stem cell Transplantation. *Transplantation Proceeding* (2017): 49,890-892.
- [4] Tang X, Alatrash G, Ning J, Jakher H, Stafford P, Zope M., et al. Increasing chimerism after allogeneic stem cell transplantation is associated with longer survival times. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014;20(8) 1139-44.
- [5] Sellman L, Rabe K, et al. Diagnostic value of highly-sensitive chimerism analysis after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*. <https://doi.org/10.1038/s41409-018-0176-7>.
- [6] Kroger N, Bacher U, Brader P, Bottcher S, Borowitz MJ, Dreger P et al. NCI First International Workshop on the Biology, Prevention and Treatment of Relapse after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation report from the Committee on Disease-Specific Methods and Strategies for Monitoring Relapse follo-

- wing allogeneic Stem Cell Transplantation. Part I. Methods, acute leukemias, and myelodysplastic syndromes. *Biol Blood Marrow Transplant: J Am soc Blood Marrow Transplant*. 2010; 16:1187-211.
- [7] Kroger N, Bacher U, Brader P, Bottcher S, Borowitz MJ, Dreger P et al. NCI First International Workshop on the Biology, Prevention and Treatment of Relapse after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation report from the Committee on Disease-Specific Methods and Strategies for Monitoring Relapse following allogeneic Stem Cell Transplantation. Part II: chronic leukemia's, myeloproliferative neoplasms and lymphoid malignancies.. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2010; 16:1325-46.
- [8.] Kliman D, et al. Ultra-Sensitive Droplet Digital PCR for the Assessment of Microchimerism in Cellular Therapies. *Biol. Blood Marrow Transplant* (2018): 24; 1069-1078.
- [9] Technical Manual. Gene prints STR Systems (Silver Stain Detection). Promega Corporation.
- [10] Global Filer PCR Amplification User Guide. Applied Biosystems. Thermo Fisher Scientific.
- [11.] Wang D., Goopinath S., Lagacé R., Norona W., Hennessy L., Short M., Mulero J. Development validation of the Global Filer Express PCR Amplification Kite: a 6-dye multiplex assay for the direct amplification of reference samples. *Forensic Science International. Genetics*. 19(2015)148-155.
- [12] Thiede C, Florek M, et al. Rapid quantification for mixed chimerism using multiplex amplification of short tandem repeats markers and fluorescent detection. *Bone Marrow Transplant* 1999;23:1055-1060.
- [13] Thiede C. Quantitative analysis of chimerism after allogeneic stem cell transplantation using multiple PCR amplification of short tandem repeats markers and fluorescent detection. *Leukemia* (2001) 15: 302-306.