

REVISIÓN

De la anatomía patológica convencional a los nuevos perfiles genéticos del cáncer de mama

T. Checa, M. C. Ardiaca¹, J. Isern, A. Modolell

Servicio de Oncología Médica. IDOC Centre Mèdic Barcelona. ¹Institut d'Histopatologia Ardiaca. Barcelona

RESUMEN

La mortalidad por cáncer de mama se ha reducido gracias al diagnóstico precoz y a los tratamientos adyuvantes. Los efectos secundarios, toxicidades potenciales y el coste de los tratamientos sistémicos condicionan la individualización terapéutica con una mejor selección de las pacientes. La heterogeneidad del cáncer de mama nos obliga a considerar los factores pronósticos y predictivos.

Desde hace 25 años clasificamos el cáncer de mama según su tipo histológico, grado y expresión de los receptores hormonales. Desde hace 15 años, gracias a la aplicación de las técnicas de hibridación *in situ* de los ácidos nucleicos, los tumores se clasifican en HER2 sobre-expresado o no sobre-expresado. Desde hace menos de 5 años se han definido distintos patrones de expresión genética que nos aportan una nueva clasificación molecular. Perou y Sorlie publicaron el estudio pionero en *Nature* 2000, demostrando que la heterogeneidad morfológica de los tumores mamarios puede reclasificarse en 4 grupos principales: luminal A, luminal B, HER2 amplificado y similar a basal (*basal-like*) en base a los estudios de reordenamiento genético. Los dos primeros son de mejor pronóstico y el *basal-like* está relacionado con un comportamiento más agresivo, con tendencia a desarrollar metástasis y con un fenotipo "triple negativo" (para los receptores de estrógenos, de progesterona y para el HER2), que los excluye de las terapias diana hormonal y anti HER2, y aunque pueden responder bien a la quimioterapia neoadyuvante y adyuvante, su pronóstico es malo.

De la misma manera la cuantificación de ciertos genes y su ponderación según el impacto en su valor predictivo, ha sido crucial para obtener los llamados tests genéticos predictivos.

Estamos ante un reto diagnóstico y terapéutico que focaliza la atención de los especialistas implicados en el cáncer de mama y que nos permitirá plantear estrategias terapéuticas individualizadas y adaptadas a la singular situación clínica y biológica de cada paciente.

Palabras clave: Cáncer de mama. Clasificación molecular. Perfil genético pronóstico.

ABSTRACT

Breast cancer mortality has declined as a result of early detection and application of adjuvant systemic therapy. Individualisation of this therapy regarding the selection of patients may avoid side effects, potential toxicities and cost of adjuvant therapy. The heterogeneity of breast cancer obliges us to consider prognostic and predictive factors.

Invasive breast carcinomas were classified, since 25 years ago, according to histological type, grade and expression of hormone receptors. Fifteen years ago and thanks to the introduction of the hybridization *in situ* of nucleic acids techniques, we could classify breast tumors in HER2 amplified and not amplified HER2. More recently, the molecular portraits or variation in gene expression patterns by Perou and Sorlie (*Nature* 2000), have demonstrated that the morphological heterogeneity of breast cancer could be reclassified based in the DNA microarrays analysis studies. These studies have shown that the expression profiles of breast cancer display a systematic variation and allowed the classification of breast cancer into 4 main groups: luminal A, luminal B, amplified Her2 and basal-like breast carcinomas. The first two groups have better prognosis and the latter group is reported to have a more aggressive clinical behaviour. In addition, the majority of basal-like breast cancers are hormone receptors and HER2 negative (triple-negative), and thus cannot be targeted with current tailored therapies (i.e. endocrine and anti-HER2 therapies), but they often respond to conventional neoadjuvant and adjuvant chemotherapy regimes, furthermore their prognosis remains poor.

In the same way the quantification of certain genes and their weighting according to their impact on predictive value, has been crucial to obtain the so-called predictive genetic test.

The diagnostic and therapeutic challenge posed by this new approach has captured the attention of specialist implied in breast cancer research.

Key words: Breast cancer. Molecular classification. Prognostic genetic test.

Recibido: 23-06-08.
Aceptado: 10-09-08.

Correspondencia: Teresa Checa Ruiz. Servicio de Oncología Médica. IDOC Centre Mèdic Barcelona. C/ Gironella, 6, 1ª planta. Clínica Corachan 3. 08017 Barcelona. e-mail: 18345tr@comb.es

INTRODUCCIÓN

En la última década hemos constatado cómo la anatomía patológica convencional del cáncer de mama se ha visto complementada con las técnicas de la inmunohistoquímica (IHQ), inmunofluorescencia, biología molecular y citometría de flujo, logrando mejorar la obtención de factores pronósticos y predictivos. Así mismo, se han desarrollado patrones de expresión genómica (1-5) que, aplicados a las enfermas que han recidivado y a las que están libres de enfermedad, pueden predecirnos la evolución clínica con más precisión que los factores clínico-patológicos habituales.

La moderna genómica, expresión de la revolución “ómica” que nos invade, nos permite comprender mejor la biología tumoral del cáncer de mama y plantear una reclasificación molecular, distinguiendo cuatro tipos: luminal A, luminal B, basal y HER2 positivo, mérito de los investigadores Perou (1) y Sorlie (2). Cada tipo tendrá una evolución clínica diferente, desde el luminal A de mejor pronóstico hasta el basal (identificado como “triple negativo”) más agresivo y con elevadas tasas de recurrencia.

Esta revisión pretende mostrar como la moderna biología molecular complementa la histopatología clásica. Se describen los principales “perfiles genéticos” o “firmas genéticas” conocidas: perfil de 70 genes (6,7), de 21 genes (8,9), de 76 genes (10,11) y de 2 genes (12,13). Se presentan las dos investigaciones clínicas en curso más importantes para validar su utilidad clínica: el estudio TAILORX en Estados Unidos basado en el test OncotypeDX (8) y el estudio MINDACT en Europa basado en el test MammaPrint (6,14,15). Finalmente se efectúan algunas consideraciones sobre la utilidad clínica de estos nuevos marcadores biológicos y el impacto que pueden tener en nuestra práctica clínica diaria.

FACTORES PRONÓSTICOS Y PREDICTIVOS EN CÁNCER DE MAMA

Los *factores pronósticos* nos informan sobre la historia natural y la evolución de la enfermedad, sin tratamiento. Reflejan la mayor o menor agresividad de la enfermedad.

Los *factores predictivos* nos informan sobre la probabilidad de respuesta o resistencia tumoral a un tratamiento determinado. Son factores predictivos de respuesta.

En la tabla I se muestra una clasificación de los factores pronósticos y predictivos en cáncer de mama, separando los factores convencionales cuya utilidad clínica está demostrada, de los reconocidos y estudiados pero en fase de validación clínica y de los recientemente introducidos pero todavía no validados, entre los que se encuentra el perfil genético.

Los factores pronósticos y predictivos convencionales del cáncer de mama se han visto complementados por los procedentes de las técnicas IHQ y la biología molecular. Con todo, debemos tener en cuenta lo siguiente:

Tabla I. Factores pronósticos y predictivos en cáncer de mama

Categoría 1. FP convencionales de utilidad demostrada en clínica. Importancia pronóstica comprobada

–*Dependientes del tumor:*

- Ganglios axilares
- Tamaño tumoral
- Tipo histológico
- Grado histológico
- Invasión vascular y linfática
- Receptores hormonales
- Oncogen HER2

–*Dependientes de la enferma:*

- Edad

Categoría 2. FP reconocidos y bien estudiados clínica y biológicamente. Pendientes de validar su utilidad clínica

- Índice de proliferación celular: índice mitótico. Captación timidina. Fase S Ki67 (MIB 1)
- p53
- Angiogénesis
- Activador/Inhibidor del plasminógeno: uPA, PAI 1

Categoría 3. FP pendientes de validar

- Células circulantes en sangre periférica
- Micrometástasis medulares
- Perfil genético

FP: factores pronósticos.

1. Los factores pronósticos convencionales (tamaño tumoral, invasión ganglionar axilar, tipo histológico, grado histológico, invasión vasculo-linfática, receptores hormonales y oncogén HER2), tienen una importancia pronóstica comprobada y vigente. Todos ellos deben ser evaluados antes de establecer un pronóstico y plantear una estrategia terapéutica.

2. Los factores predictivos más utilizados son los receptores hormonales de estrógenos (RE) y de progesterona (RPg). Es importante determinar ambos receptores, ya que los tumores con elevada positividad de los RE y de RPg responderán mejor a la hormonoterapia. La expresión del RPg indica una función óptima del RE. Los tumores con negatividad de ambos receptores no responderán al tratamiento hormonal. En la reunión de consenso de Sant Gallen de 2007 se definieron tres categorías de respuesta endocrina (16):

–*Altamente hormonosensibles:* alta expresión de RE y RPg en gran número de células.

–*Medianamente hormonosensibles:* menor expresión de RE y RPg o no expresión de uno de ellos.

–*Hormonorresistentes:* negatividad de ambos RE y RPg.

En dependencia de estas tres categorías de hormonosensibilidad y de la expresión del oncogén HER2, en la reunión de consenso de Sant Gallen (16) se efectuaron unas recomendaciones terapéuticas que se detallan en la tabla II.

3. El oncogén HER2 se ha convertido en el otro factor predictivo imprescindible. Se considera positivo si se detecta una alta expresión IHQ (+++). Si la expresión es moderada (++) debe comprobarse si está amplificado mediante técnicas de inmunofluorescencia (FISH) (17). El principal atributo del HER2 es predecir la respuesta al anticuerpo monoclonal humanizado trastuzumab (herceptina), combinada con la quimioterapia, tanto en la enfermedad avanzada como en el tratamiento inicial del cáncer de mama (18,19).

Tabla II. Recomendaciones terapéuticas del consenso de St. Gallen según hormonosensibilidad y expresión de HER2

	Respuesta endocrina alta	Respuesta endocrina media	Respuesta endocrina baja
HER2 neg.	HT (QT según riesgo)	HT (QT según riesgo)	QT
HER2 pos.	HT+ Trastuzumab	HT+ Trastuzumab	Trastuzumab

HT: hormonoterapia; QT: quimioterapia; HER2 neg: no expresión de HER2; HER2 pos: expresión de HER2 (modificado de Goldhirsch A. Ann Oncol 2007; 18: 1133-44).

4. Desde el año 2002, diversos estudios retrospectivos avalan la asociación entre la amplificación de la topoisomerasa IIa y la mayor respuesta a las antraciclinas (20-23). La validación de la topoisomerasa como un importante factor predictivo, puede ayudarnos a seleccionar qué enfermas serán candidatas a recibir antraciclinas en adyuvancia. Es muy posible que la indicación de las antraciclinas en adyuvancia sea restringida al grupo de enfermas que expresen positividad al HER2 y a la topoisomerasa IIa, aunque es un tema debatido y son precisos estudios adicionales para clarificar esta relación predictiva (24).

5. Tal como se describe en la tabla I, el perfil genético como factor pronóstico y predictivo se sitúa en la categoría 3, o sea entre los pendientes de validación clínica.

FISIOPATOLOGÍA CELULAR DEL CÁNCER DE MAMA

Tumores malignos de la mama, histológicamente similares, muestran diferencias a nivel molecular en estudios con técnicas de reordenamiento genético o *microarrays* (1,6).

El acino mamario, considerado como unidad fisiomorfología del componente epitelial mamario, está constituido por al menos tres tipos de células: luminales (glandulares secretoras), *basales* (mioepiteliales) y *células matriz* (*stem cells*).

Por definición, los tres tipos celulares expresan distintos inmunofenotipos. Los anticuerpos monoclonales detectan las proteínas inducidas por oncogenes nucleares de las células en estudio, por tanto, agrupando distintos patrones de expresión genética se ha intentado clasificar a los tumores mamaros en dos grandes subtipos biológicos: de *bajo* y *alto grado* y de *mejor* o *peor firma genética*.

Nielssen (25) propuso cuatro anticuerpos para establecer una posible clasificación unitaria de base genética e IHQ del carcinoma ductal infiltrante mamario:

- Receptores hormonales estrogénicos (RE).
- Receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR).
- Expresión de HER2.
- Citoqueratinas basales 5/6 (de alto peso molecular).

Existen tumores de alto grado, de mal pronóstico, con tendencia a las metástasis pulmonares y cerebrales, angiogénesis y necrosis tumoral geográfica que expresan un

fenotipo *basal*: RE (-), RPg (-), HER1 (EGFR) (+), HER2 (-) y citoqueratinas basales 5/6 (+). Es destacable el hallazgo de que no todos los tumores clasificados como *tipo basal* con técnicas de *microarrays*, expresan las citoqueratinas 5/6, por lo que se sospecha que se hallan implicados otros fenómenos de desdiferenciación celular (26).

En el lado opuesto de la clasificación de Nielssen (25) nos encontramos tumores que expresan un inmunofenotipo denominado *luminal*: RE (+), citoqueratinas 8/18 (+), identificándose como luminal A al que presenta HER2 (-) y como luminal B al HER2 (+).

El cuarto y último grupo emerge cuando se estudian los tumores con técnicas de reordenamiento jerárquico (*hierarchical clustering*), definiendo el tipo HER2 amplificado: RE (-), HER2 (+) que, junto a los tumores de tipo basal, poseen los genes de peor firma pronóstica.

Histomorfológicamente se observan hallazgos que se superponen entre el tipo basal y el HER2 sobre-expresado: grado histológico III/III de Scarff, Bloom, Richardson (SBR) (27), marcada necrosis y apoptosis celular, expresión de vimentina, citoqueratinas 5/6 y 17 positivas, mutación del oncogén p53, todas ellas muy similares al carcinoma de células escamosas de pulmón.

Todo lo dicho sugiere la hipótesis de que una célula matriz se diferenciará debido a distintos estímulos exógenos (carcinogénesis ambiental) o endógenos (portadores del gen BRCA1), en tipo basal o tipo luminal, dependiendo de ello su pronóstico. El EGFR juega un papel principal en la progresión tumoral en los carcinomas RE (-), es decir, de inmunofenotipo basal que no siempre expresan la IHQ de células mioepiteliales (con positividad de alfa-actina, laminina y S-100).

SUBTIPOS DE CÁNCER DE MAMA EN BASE DE LA CLASIFICACIÓN MOLECULAR

El primer trabajo que examinó los patrones de expresión genética en cáncer de mama fue publicado por Perou en la revista *Nature* el año 2000 (1). Sugirió la existencia de, por lo menos, cuatro diferentes tipos moleculares: *luminal-like*, *normal-like*, *basal-like* y HER2 positivo. Otros autores confirmaron las diferencias entre los grupos moleculares y su relación con las categorías de receptores hormonales positivos o negativos (3,28).

—*Tipo luminal*. Engloba el grupo de tumores que expresan receptores de estrógenos positivos. Se caracterizan por la alta expresión de genes asociados a las células epiteliales luminales. Por IHQ se detecta un inmunofenotipo positivo para las citoqueratinas 8/18 (4); aunque recientemente se han publicado estudios que muestran que estas citoqueratinas no se expresan exclusivamente en el tipo luminal (29). El tipo luminal se diferencia en dos subtipos:

- *Subtipo luminal A* (Fig. 1). RE (+), RPg (+), HER2 (-). Se caracteriza por su mejor pronóstico, con alta tasa de respuesta a la hormonoterapia y, posiblemente, escaso

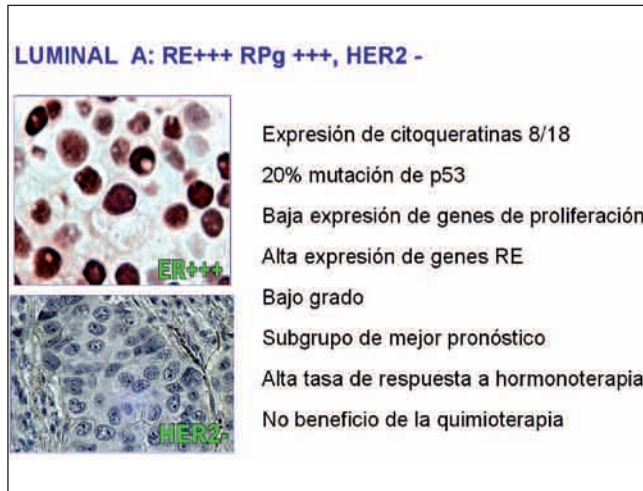


Fig. 1. Características y patrones de expresión génica del tipo luminal A.

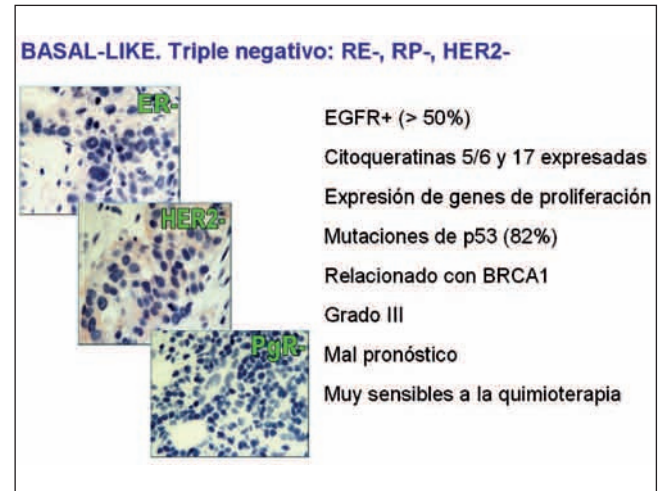


Fig. 3. Características y patrones de expresión génica del tipo basal-like.

o nulo beneficio de la quimioterapia, aspecto que está siendo valorado en los estudios TAILORX (30) y MINDACT (31).

- *Subtipo luminal B* (Fig. 2). RE (+), RPg (+/-), HER2 (+). Presenta una expresión moderada baja de receptores estrogénicos y mayor expresión de genes de proliferación. Se beneficia de la quimioterapia y la hormonoterapia (26).

- *Tipo basal-like* (Fig. 3). RE (-), RPg (-), HER2 (-). Se asocia con la expresión de genes característicos de las células epiteliales basales del acino mamario. Se caracterizan por su negatividad a los receptores hormonales de estrógenos y progesterona y la ausencia de expresión del HER2. Por IHQ presentan expresión de las citoqueratinas 5/5 y 17 (32). Livasy y cols. han identificado un subtipo de tumores basales que expresan citoqueratinas de tipo luminal (29). Los tumores de tipo basal se asocian a la disfunción de los genes BRCA 1 y EGFR, con una alta tasa de proliferación y mal pronóstico clínico. El tipo *basal-like* es habitualmen-

te considerado como un fenotipo “*triple negativo*”, que le confiere un mal pronóstico clínico (33).

- *Tipo HER2 (+)* (Fig. 4). RE (-), HER2 (+). Se caracteriza por tener receptores de estrógenos negativos y alta expresión de genes relacionados con la amplificación de HER2. Se asocian a un peor pronóstico que los subtipos luminales A y B y son tributarios de un tratamiento diana específico con el anticuerpo monoclonal humanizado trastuzumab (herceptina). Tienen una alta tasa de respuesta a esquemas de quimioterapia que incluyan antraciclina y/o taxanos (2).

Esta distinción entre los patrones de expresión génica de los cánceres de mama, nos permite distinguir subclases tumorales con evoluciones clínicas diferentes. Los mejores pronósticos están reservados para los grupos luminal A y B y los peores para los grupos HER2 positivo y basal, siendo los luminales A los de mejor pronóstico y los basales los de evolución más agresiva (2).

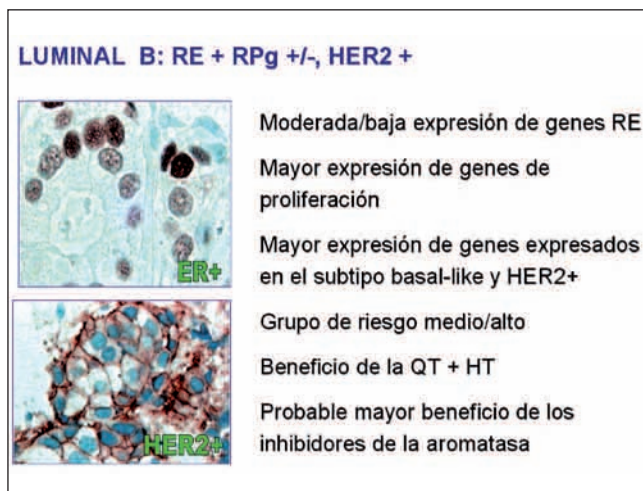


Fig. 2. Características y patrones de expresión génica del tipo luminal B.

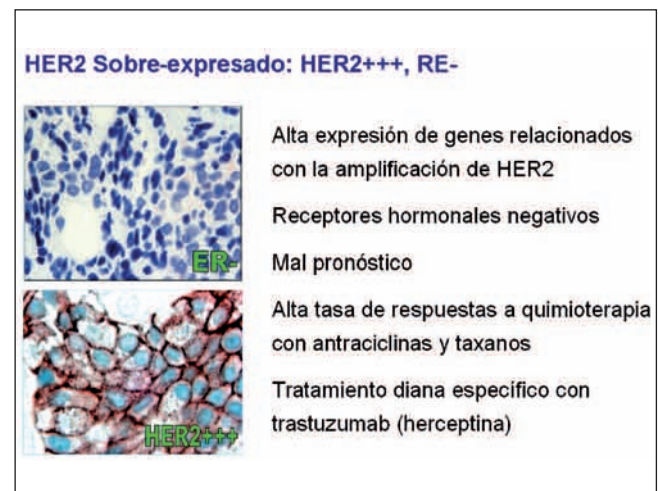


Fig. 4. Características y patrones de expresión génica del tipo HER2.

TESTS GENÉTICOS PRONÓSTICOS

Los progresos en las técnicas genéticas han permitido que el diagnóstico del cáncer de mama también pueda participar en la nueva era genómica. De estos nuevos avances debemos destacar los ADN *microarray* (*gene chip* o *ADN chip*), técnica basada en una plataforma que consta de una colección de pozuelos microscópicos de ADN ("features"), que normalmente representan un gen o transcriptor, ordenados y fijados en una base sólida mediante enlaces covalentes o directamente sintetizados en dicha base. Estas medidas cuantitativas o cualitativas se realizan mediante hibridaciones de naturaleza ADN-ADN, o ADN-ARN en condiciones muy restrictivas y basadas en su detección por fluorescencia. Estos *microarrays* nos permiten definir un perfil de expresión genética, que puede medir desde unos cuantos genes hasta miles de ellos de forma simultánea. De forma resumida, el test genético es un estudio de la expresión del RNA mensajero celular, lo que nos permite estudiar indirectamente una vía proteica. No debemos olvidar que con estos métodos estudiamos la vía proteica indirectamente y únicamente desde el punto de vista cuantitativo no funcional, lo que representa una limitación de los tests genéticos basados en *microarrays*.

La cuantificación de ciertos genes y la aplicación de unos coeficientes de ponderación según el impacto en su valor predictivo, ha sido crucial para obtener los llamados tests genéticos predictivos. Su desarrollo consta de tres fases. En la fase I se valora el descubrimiento y optimización del test. En la fase II se efectúa una validación independiente y la determinación de su precisión. En la fase III se comprueba su utilidad clínica.

Actualmente disponemos de cuatro tests genéticos predictivos: Oncotype DX (Genomic Health Inc, Redwood, CA), MammaPrint (Agendia, Slotervaart Hospital, Amsterdam, Holanda), Rotterdam Signature Test (Erasmus MC/Daniel den Hoed Cancer Center, Rotterdam) y H/I Test, Breast Cancer Gene Expression Ratio (Avaria Dx Inc, Carlsbad, CA).

Oncotype DX

Producido por Genomic Health Inc, Redwood, y desarrollado por Paik y cols. (8) fue el primer test validado clínicamente.

Se basa en la detección de 21 genes de 250 estudiados en 447 pacientes procedentes de estudios aleatorizados de largo seguimiento correspondientes a pacientes tratadas por cáncer de mama estadios I y II, ganglios negativos y receptores estrogénicos positivos, candidatas a ser tratadas con tamoxifeno. El estudio se realizó en el ARN extraído de los bloques de las piezas tumorales fijados en parafina o formol. Se hallaron 16 genes relacionados con la recidiva tumoral, entre los que se detectaron genes de proliferación, genes de invasión, familia HER2, genes es-

trogénicos y otros 5 genes. Los niveles de expresión fueron medidos por un algoritmo cuantitativo dando un resultado entre 0 a 100 que se denomina "recurrence score" (RS). El RS permite estratificar a los pacientes en tres niveles de riesgo de recidiva: riesgo bajo (RS < 18), riesgo medio (18-30) y riesgo alto (RS ≥ 30).

Cuatro estudios (8,9,34,35) han permitido validar el test. Paik (8) utilizó un estudio retrospectivo basado en el ARN de 651 pacientes del ensayo NSABP B-20, para valorar el impacto de la quimioterapia en relación con el RS. En pacientes con un RS elevado (de alto riesgo) el uso de la quimioterapia mostraba un impacto estadísticamente significativo tanto en el control local como en la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global. Este beneficio de la quimioterapia era muy bajo o nulo en las pacientes que presentaban un RS de bajo riesgo. El grupo de riesgo intermedio no obtenía un gran beneficio con la quimioterapia adyuvante, pero la dificultad en la estimación del efecto no excluía un posible beneficio clínico.

No existe ninguna publicación que nos relacione a una misma población de pacientes clasificadas con el RS y la compare con los predictores convencionales. En una comunicación de Paik y cols. (36), presentada en forma de póster en el *Sant Antonio Breast Cancer Conference* de 2004, mostraba que el poder predictivo del RS era superior a los criterios del Consenso de Saint Gallen y a las indicaciones de las guías del *National Comprehensive Cancer Network (NCCN)*, en cuanto a la clasificación de los pacientes para el uso de quimioterapia y podía reclasificar algunos pacientes. El estudio indicaba que la mitad de las pacientes clasificadas por NCCN como de alto riesgo eran reclasificadas como de bajo riesgo de recidiva a 10 años. Lo mismo se demostró en relación con el programa *Adjuvant Online* (adjuvantonline.com) del que conocemos su relación a través de una presentación oral en la conferencia de consenso de Saint Gallen de 2005 (37). Un 40% de pacientes clasificadas por *Adjuvant Online* como de alto riesgo de recidiva de aproximadamente un 22%, pasaban a reclasificarse como de bajo riesgo con un índice de recidiva del 8%.

Estos hechos demuestran el mayor potencial del test en reclasificar las pacientes de alto riesgo en bajo riesgo, reduciendo el número de pacientes candidatas a recibir quimioterapia de manera innecesaria. Combinando esta prueba con los tests convencionales (NCCN versión 2008 y *Adjuvant Genomics 7.0*) se aumenta el nivel de predicción en el beneficio del uso de la quimioterapia, premisa del estudio TAILORX (30) que desarrollaremos posteriormente.

MammaPrint

Producido por Agendia, Slotervaart Hospital, Amsterdam, Holanda y desarrollado inicialmente por el National Cancer Institute (Amsterdam) e instituciones colaborado-

ras, a partir del estudio de 117 pacientes ganglios negativos (6). Primer test aprobado por la FDA y también incluido en las guías de la NCCN. Requiere tejido fresco con un mínimo del 30% de carcinoma invasor, el cual tiene que ser remitido a la compañía para su análisis en un tiempo no superior a 5 días. Se analizan la expresión de 70 genes de ARN (genes reguladores de la proliferación, invasión, metástasis, estromales y angiogénesis) que se correlacionan con la probabilidad de presentar metástasis en un corto espacio de tiempo.

El test se ha validado en 295 pacientes estadios I y II menores de 52 años de edad (38). Los resultados en probabilidad de supervivencia libre de metástasis a 10 años fueron $85,2 \pm 4,2\%$ para los pacientes de bajo riesgo según la expresión genética del test y del $50,6 \pm 4,5\%$ en los 180 pacientes clasificados como de alto riesgo. La supervivencia global fue del $94,5 \pm 2,6$ y $54,6 \pm 4,4$ respectivamente. El poder predictivo del test para metástasis, riesgo relativo de metástasis a distancia del grupo de mal pronóstico respecto al de buen pronóstico; es un $5,1\%$ ($p < 0,001$).

Estudios complementarios mostraron que en el subgrupo de pacientes con receptores hormonales positivos la posibilidad de metástasis se relacionaba con la expresión de genes del ciclo celular (39). La posibilidad de estar libre de metástasis a 10 años era de un 24% en el perfil de alto riesgo comparado con un 85% en la restantes. Esta correlación entre el perfil y los resultados solo se presentó en este subgrupo de pacientes.

El estudio TRANSBING (7) intentará sobreponer posibles sesgos en la selección de los genes, error en la estimación y la estabilidad del perfil genético de los dichos estudios preliminares. El estudio MINDACT (31) va dirigido a demostrar su utilidad clínica. Podemos afirmar que el test MammaPrint nos puede identificar grupos de pacientes de buen pronóstico y mal pronóstico, pero dado el diseño de los estudios previos no nos da ninguna información respecto al impacto de los tratamientos recibidos.

Rotterdam Signature Test

No está aún comercializado. Está basado en la investigación de la expresión genética y fue inicialmente desarrollado por el Erasmus MC/Daniel den Hoed Cancer Center de Rotterdam (10,11). Consiste en un *microarray* de 76 genes de los que ninguno se solapa con los test OncotypeDX ni con el MammaPrint.

El perfil del test Rotterdam Signature ha sido específicamente estudiado en pacientes afectas de cáncer de mama ganglios negativos sin tener en cuenta ningún otro factor, a diferencia de los tests anteriores. La preparación de la muestra es parecida al MammaPrint precisando tejido fresco y no permite su realización en *core* biopsias (14). El desarrollo se realizó a partir de un estudio con 286 pacientes que se clasificaron según la presencia cuantificada de receptores hormonales. Un total de 209 pa-

cientes fueron receptores positivos RE (+) y 77 pacientes receptores negativos RE (-). El objetivo del estudio fue la presentación de metástasis a 5 años. Se identificaron 60 genes predictivos para los RE (+) y 16 genes para los RH (-). La validación del test se realizó en 171 casos ganglios negativos e independientes de otras variables, dando un valor predictivo de 5,55 ($p < 0,0001$), es decir, el riesgo relativo de desarrollar metástasis a distancia en los primeros 5 años tras la cirugía.

H/I Test

Breast Cancer Gene Expression Ratio (Avaria Dx Inc, Carlsbad, CA). Es un test cuantitativo basado en la técnica de RT-PCR y en la ratio de los dos genes HOXB6 y IL17BR (15,16). Los genes fueron descubiertos utilizando técnicas de tests de oligonucleótidos en material fresco y posteriormente validados con técnicas de RT-PCR en el mismo material, es decir, en muestras de tejido tumoral. La ratio H/I puede predecir una recaída o metástasis en pacientes RH (+) tratadas con tamoxifeno. Dos estudios (12,40) han demostrado que el hecho de ser clasificadas como de bajo riesgo o alto riesgo en la expresión de ambos genes, da como resultado un 17 % de recurrencia a 10 años o un 25% de recurrencia a 10 años respectivamente.

No hay ningún estudio para evaluar en poblaciones retrospectivas la posibilidad de predecir el beneficio de los tratamientos de quimioterapia en comparación con los criterios convencionales.

ESTUDIOS SOBRE LA UTILIDAD CLÍNICA DE LOS TESTS GENÉTICOS

Muchas pacientes diagnosticadas de cáncer de mama sin invasión axilar y con receptores hormonales positivos, son sobre-tratadas con quimioterapia, pudiendo haber sido tratadas exclusivamente con hormonoterapia.

En la actualidad se están desarrollando dos estudios prospectivos de utilidad clínica: el TAILORX para el Oncotype DX en EE.UU. (30) y el MINDACT para el MammaPrint en Europa (31).

El primer estudio que evalúa la integración de los tests genéticos en la práctica clínica, en vistas a tomar una decisión terapéutica individualizada para cada paciente, es el estudio TAILORX (*Trial Assigning Individualized Options for Treatment*) (30). Este estudio incluye pacientes con ganglios negativos, receptores estrogénicos positivos y HER2 negativo, que recibirían quimioterapia según las recomendaciones de las guías clínicas. Las mujeres incluidas son estratificadas según la valoración del riesgo de recidiva o *recurrence score* (RS) del Oncotype DX:

—RS inferior a 11: reciben tratamiento hormonal exclusivamente.

—RS entre 11 y 25: son aleatorizadas a recibir quimioterapia más hormonoterapia (rama control) o bien hormonoterapia exclusiva (rama experimental).

—RS superior a 25: reciben quimioterapia y hormonoterapia.

Objetivos principales del estudio son:

—Comparar la supervivencia libre de enfermedad de las pacientes, ganglios negativos, RH +, y con un Oncotype DX Recurrence Score (RS) de 11-25 tratadas con combinación de quimioterapia adyuvante y terapia hormonal frente a la terapia hormonal de manera exclusiva.

—Comparar el intervalo libre de enfermedad y la supervivencia global de las pacientes con un RS de 11-25 tratadas con estos regímenes.

El segundo estudio ha sido promovido por el *Breast International Group (BIG)* con el título *MINDACT (Microarray in Node-Negative May Avoid Chemotherapy)* (31), para validar la firma de 70 genes MammaPrint y demostrar la superioridad del perfil genético molecular sobre los criterios clínicos y patológicos utilizados habitualmente para indicar, o desaconsejar, un tratamiento quimioterápico en pacientes de buen pronóstico, sin invasión ganglionar axilar y con receptores de estrógenos positivos. Los objetivos primarios del estudio MINDACT son:

—Demostrar la superioridad de la firma genética sobre los factores pronósticos convencionales clínicos y patológicos, habitualmente utilizados para asignar las categorías de riesgo en las enfermas sin invasión axilar.

—Comparar un esquema de quimioterapia con docetaxel y capecitabina, posiblemente asociado a un aumento de la eficacia y reducción de las toxicidades a largo plazo, con los esquemas que utilizan antraciclinas.

—Determinar la mejor estrategia hormonal, comparando siete años de letrozol con la secuencia de dos años de tamoxifeno seguidos de cinco años de letrozol.

Las pacientes clasificadas de bajo riesgo no reciben quimioterapia adyuvante. Cuando se presenten discordancias entre los parámetros clínicos y patológicos y el perfil genético, son aleatorizadas entre uno u otro criterio para recibir, o no, tratamiento adyuvante.

En resumen, la hipótesis es demostrar que el uso del test genómico, además de los métodos tradicionales, se traducirá en una más precisa evaluación de riesgos.

Si el estudio confirma la hipótesis, se espera que en el futuro el 10 al 20% de los pacientes con ganglios negativos de cáncer de mama puedan evitar la quimioterapia y sus posibles efectos secundarios.

CONCLUSIÓN

En los países desarrollados la mortalidad por cáncer de mama ha descendido en las dos últimas décadas, gracias al diagnóstico precoz y los tratamientos adyuvantes. Con todo, estamos sobre-tratando a determinados grupos de enfermas, como las que presentan tumores pequeños, ausencia de afectación axilar y receptores hormonales

positivos. Dado que los tratamientos adyuvantes no están exentos de toxicidades y efectos secundarios, es importante seleccionar mejor a las enfermas para individualizar los tratamientos. Debemos considerar:

1. Los factores pronósticos clínico-patológicos clásicos siguen vigentes y son imprescindibles para establecer un pronóstico y un tratamiento adyuvante adecuado.

2. Los factores predictivos validados son los receptores hormonales y el HER2. La topoisomerasa IIa está pendiente de validación clínica.

3. Nuevos marcadores biológicos como p53, ki67, ciclinas, PAI-1, células circulantes periféricas, micrometástasis medulares, entre otros, podrán ayudarnos en un futuro próximo.

4. La nueva clasificación molecular y los tests genéticos, muy posiblemente, nos permitirá una mejor estratificación pronóstica y predictiva.

5. Los estudios publicados con los tests genéticos han sido retrospectivos. Son muy importantes los estudios prospectivos TAILORX y MINDACT para validar su utilidad predictiva en las enfermas sin invasión axilar y receptores hormonales positivos.

6. Será preciso efectuar estudios prospectivos para valorar la utilidad de los tests genéticos en las enfermas con afectación axilar.

7. La cantidad de parámetros diagnósticos y terapéuticos que inciden en el cáncer de mama, pone de relieve la necesidad de que cada mujer afecta de un cáncer de mama sea evaluada por un Comité de Tumores o Unidad de Patología Mamaria Interdisciplinaria.

Puede afirmarse que la era de la medicina personalizada ya ha empezado. Progresivamente estaremos en condiciones de ofrecer, a cada enferma, una estrategia terapéutica integrada e individualizada (*tailored therapy*) a la singular e irreplicable situación clínica y biológica de cada paciente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Perou C, Sorlie T, Eisen M, van de Rijn M, Jeffrey S, Rees C, et al. Molecular portraits of human tumors. *Nature* 2000; 406: 747-52.
2. Sorlie T, Perou C, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression of breast carcinomas distinguishes tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 10869-74.
3. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron J, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 8418-23.
4. Sotiriou C, Neo S, McShane L, Korn P, Long P, Jazaeri A, et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 10393-8.
5. Hu Z, Fan C, Oh DS, Marron J, He X, Quakish B, et al. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. *BMC Genomics* 2006; 7: 96.
6. van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver M, He Y, Hart A, Mao M, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002; 415: 530-6.
7. Buyse M, Loi S, van't Veer L, Viale G, Delorenzi M, Glas A, et al. Validation and clinical utility of a 70-gene prognostic signature for women with node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98: 1183-92.

8. Paik S, Shak S, Tang G, Kim C, Baker J, Cronin M, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative patients. *N Engl J Med* 2004; 351: 2817-26.
9. Habel L, Shak S, Jacobs M, Capra A, Alexander C, Pho M, et al. Population-based study of tumor gene expression and risk of breast cancer death among lymph node-negative patients. *Breast Cancer Res* 2006; 8: R25.
10. Wang Y, Klijn J, Zhang Y, Sieuvert A, Look M, Yang F, et al. Gene-expression profiles to predict distant metastasis of lymph-node-negative primary breast cancer. *Lancet* 2005; 365: 671-9.
11. Foekens J, Atkins D, Zhang Y, Sweep F, Harbeck N, Paradiso A, et al. Multicenter validation of a gene expression-based prognostic signature in lymph node-negative primary breast cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24: 1665-71.
12. Ma XJ, Hilsenbeck S, Wang W, Ding L, Sgroi D, Bender R, et al. The HOXB13:IL17BR expression index is a prognostic factor in early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4611-9.
13. Goetz M, Suman V, Ingle J, Nibbe A, Visscher D, Reynolds C, et al. A two-gene expression ratio of homeobox 13 and interleukin-17B receptor for prediction of recurrence and survival in women receiving adjuvant tamoxifen. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 2080-7.
14. Loi S, Piccart M, Sotiriou C. The use of gene-expression profiling to better understand the clinical heterogeneity of estrogen receptor positive breast cancers and tamoxifen response. *Crit Rev Oncol Hematol* 2006; 61: 187-94.
15. Bogaerts J, Cardoso F, Buyse M, Braga S, Loi S, Harrison J, et al. Gene signature evaluation as a prognostic tool: challenges in the design of the MINDACT trial. *Nat Clin Pract Oncol* 2006; 3: 540-51.
16. Harbeck N, Jakesz R. Sant Gallen 2007: Breast cancer treatment consensus report. *Breast Care* 2007; 2: 130-4.
17. Wolf A, Hammond M, Schwartz J, Hagerty K, Allred D, Cote R, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 118-45.
18. Mass R, Press M, Anderson S, Cobleigh M, Vogel C, Dybdal N, et al. Evaluation of clinical outcomes according to HER2 detection by fluorescence in situ hybridization in women with metastatic breast cancer treated with trastuzumab. *Clin Breast Cancer* 2005; 6: 240-6.
19. Pérez E, Romond E, Suman V, Jeong J, Davidson N, Geyer C, et al. Updated results of the combined analysis of NCCTG N9831 and NSABP B-31 adjuvant chemotherapy with/without trastuzumab in patients with HER2-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: abstract 512.
20. Di Leo A, Gancberg D, Larsimont D, Tanner M, Jarvinen T, Rouas G, et al. HER2 amplification and topoisomerase II alpha gene aberrations as predictive markers in node-positive breast cancer patients randomly treated either with an anthracycline-based therapy or with cyclophosphamide, methotrexate, and 5-fluorouracil. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1107-16.
21. Knoop A, Knudsen H, Balslev E, Rasmussen B, Overgaard J, Nielsen K, et al. Retrospective analysis of topoisomerase IIa amplification and deletions as predictive markers in primary breast cancer patients randomly assigned to cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil or cyclophosphamide, epirubicin, and fluorouracil: Danish Breast Cancer Cooperative Group. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7483-90.
22. O'Malley F, Chia S, Tu D, Shepherd L, Levine M, Huntsman D, et al. Prognostic and predictive value of topoisomerase II alpha in randomized trial comparing CMF to CEF in premenopausal women with node positive breast cancer (NCIC CTG MA.5). Proceedings of the 41st American Society Clinical Oncology: 2006 junio 2-6; Atlanta (Georgia). *J Clin Oncol* 2006; 24: 11s. Abstract 533.
23. Slamon D, Eiermann W, Robert N, Pienkowski T, Martin M, Pawlicki M, et al. BCIRG 006: 2nd interim analysis phase III randomized trial comparing doxorubicin and cyclophosphamide followed by docetaxel and trastuzumab with docetaxel, carboplatin and trastuzumab in HER2 neu positive early breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2006; 100: S31. Abstract 52.
24. Pritchard K, Messersmith H, Elavathil L, Trudeau M, O'Malley F, Dhesy-Thind B. HER2 and Topoisomerase II as predictors of response to chemotherapy. *J Clin Oncol* 2008; 26: 736-44.
25. Nielsen T, Hsu F, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 5367-74.
26. Livasy C, Karaca G, Nanda R, Tretiakova M, Olopade O, Moore T, et al. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol* 2006; 19: 264-71.
27. Elston C, Ellis I. 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* 1991; 19: 403-10.
28. Pusztai L, Ayers M, Stec J, Clark E, Hess K, Stivers D, et al. Gene expression profiles obtained from fine-needle aspirations of breast cancer reliably identify routine prognostic markers and reveal large-scale molecular differences between estrogen-negative and estrogen-positive tumors. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 2401-15.
29. Livasy CA, Perou CM, Karaca G, Maia D, Jackson S, et al. Identification of a basal-like subtype of breast ductal carcinoma in situ. *Hum Path* 2007; 38: 197-204.
30. National Cancer Institute. The TAILORx Breast Cancer Trial; 2007. Available at: www.cancer.gov/clinicaltrials/digestpage/TAILORx
31. Breast International Group. TRANSBIG.MINDACT. Available at: www.breastinternationalgroup.org/TRANSBIG/MINDACT. Diciembre 2007.
32. Carey L, Perou C, Livasy C, Dressler L, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA* 2006; 295: 2492-502.
33. Rouzier R, Perou C, Symmans W, Ibrahim N, Cristofanilli M, Anderson K, et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 5678-85.
34. Esteva F, Sahin A, Cristofanilli M, Coombes K, Lee S, Baker J, et al. Prognostic role of a multigene reverse transcriptase-PCR assay in patients with node-negative breast cancer not receiving adjuvant systemic therapy. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 3315-9.
35. Cobleigh M, Tabesh B, Bitterman P, Baker J, Cronin M, Liu M, et al. Tumor gene expression and prognosis in breast cancer patients with 10 or more positive lymph nodes. *Clin Cancer Res*. 2005; 11: 8623-31.
36. Paik S, Shak S, Tang G, Baker J, Cronin M, Baehner F, et al. Risk classification of breast cancer patients by the recurrence score assay: comparison to guidelines based on patient age, tumor size, and tumor grade. *Breast Cancer Res Treat* 2004(B); 88(S1). Abstract A104.
37. Bryant J. Toward a more rational selection of tailored adjuvant therapy. *Breast* 2005; 14(1): S12.
38. van de Vijver M, He Y, van't Veer L, Dai H, Hart A, Voskuil D, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 2002; 347: 1999-2009.
39. Dai H, van't Veer L, Lamb J, He Y, Mao M, Fine B, et al. A cell proliferation signature is a marker of extremely poor outcome in a subpopulation of breast cancer patients. *Cancer Res* 2005; 65: 4059-66.
40. Ma X, Wang Z, Ryan P, Isakoff S, Barmettler A, Fuller A, et al. A two-gene expression ratio predicts clinical outcome in breast cancer patients treated with tamoxifen. *Cancer Cell* 2004; 5: 607-16.