

Los tests de análisis de perfil genético: aportaciones para la práctica clínica diaria

J. Schneider

Universidad Rey Juan Carlos. Facultad de Ciencias de la Salud. Alcorcón, Madrid

RESUMEN

La nueva clasificación molecular del cáncer de mama, surgida de los estudios pioneros de Perou y cols., ha posibilitado el desarrollo, utilizando la tecnología de microarrays, de análisis de perfil genético estandarizados, que permiten establecer el pronóstico de las pacientes no sobre la base de criterios convencionales (tamaño tumoral, invasión ganglionar, etc.), todavía hoy válidos, pero claramente insuficientes, sino en función de las características genéticas intrínsecas de los propios tumores. Estudios de validación realizados sobre material tumoral de archivo perteneciente a pacientes con seguimiento conocido, utilizando las dos plataformas actualmente comercializadas, el sistema MammaPrint®, y el Oncotype DX®, parecen demostrar que el poder pronóstico de los análisis de perfil genético es superior al proporcionado por los factores pronósticos clásicos. Sin embargo, la prueba definitiva de que esto puede ser cierto, tan sólo puede ser suministrada por ensayos clínicos prospectivos randomizados, que arrojen evidencia de nivel I. Dos de estos ensayos, el MINDACT y el TAILORX, utilizando la plataforma MammaPrint®, y Oncotype DX®, respectivamente, están actualmente en marcha, y sus resultados nos dirán si, en un futuro previsible, los análisis de perfil genético serán capaces de sustituir a los sistemas pronósticos que utilizamos en la actualidad.

Palabras clave: Cáncer. Mama. Firma genética. Pronóstico.

ABSTRACT

The new molecular classification of breast cancer emerging from the pioneering studies by Perou et al. has facilitated the development of standardized, microarray-based genetic profiling, which allows to establish the prognosis of the patients not based on conventional prognostic criteria (tumor size,

nodal invasion, etc.), still valid but clearly insufficient, but on the intrinsic genetic features of the tumors instead. Validation studies, carried out on archival tumor material from patients with a known follow-up, using both currently commercialized platforms, the MammaPrint®, and the Oncotype DX® system, seem to show a superior prognostic power of genetic profiling over classical prognostic factors. However, definitive proof that this may be true can only be provided by prospective, randomized clinical trials, which are the only ones from which level-I evidence emanates. Two such trials are actually underway, the MINDACT and the TAILORX trials, using the MammaPrint®, and Oncotype DX® platform, respectively. Their results will tell us if the prognostic systems currently used by us will be substituted by genetic profiling in a foreseeable future.

Key words: Cancer. Breast. Genetic signature. Prognosis.

INTRODUCCIÓN

Durante las 2-3 últimas décadas se ha achacado a la Biología Molecular, en relación con el cáncer de mama, algo lamentablemente cierto: que era incapaz de mejorar sustancialmente la capacidad pronóstica de los factores clásicos, en especial el tamaño tumoral y la afectación ganglionar. Es también cierto que la identificación y el estudio de cada vez más y más genes involucrados en la activación oncogénica de la célula tumoral mamaria nos ha permitido ir explorando amplios territorios de la compleja biología de este cáncer, pero, hasta hace poco, ninguno de dichos conocimientos se había traducido en un beneficio claro para las pacientes. El primer gran hito en ese sentido fue el reciente desarrollo de anticuerpos monoclonales humanizados contra dianas moleculares, cuyo máximo exponente para el tratamiento del cáncer de mama es el trastuzumab (Herceptin®). Sin embargo, el

Correspondencia: José Schneider. Universidad Rey Juan Carlos. Facultad de Ciencias de la Salud. Avda. de Atenas, s/n. 28922 Alcorcón, Madrid. e-mail: jose.schneider@urjc.es

inicio del despegue hacia una era verdaderamente nueva en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad ha venido dado por el empleo de la técnica de *microarrays* para el estudio de la biología del cáncer de mama. Los estudios pioneros prácticamente paralelos de dos grupos, uno estadounidense (Perou y cols.) (1,2) y otro holandés (van't Veer y cols.) (3,4) han permitido dos cosas fundamentales: en primer lugar, establecer una nueva clasificación del cáncer de mama basada no en la histología clásica, sino en el perfil particular de expresión génica de cada tumor, teniendo cada subgrupo molecular definido por dicha clasificación un pronóstico significativamente distinto. En concreto, el grupo de peor riesgo (independientemente de otros factores pronósticos clásicos, como puede ser la presencia de ganglios axilares invadidos) viene definido en estos trabajos por la ausencia de expresión de receptores de estrógenos (RE), la ausencia de expresión del oncogén c-erb-B2, y la expresión de citoqueratinas características de las células epiteliales del estrato basal (CK 5/6, CK 17). Al mismo tiempo, estos tumores suelen presentar mutaciones en el gen oncosupresor p53 y sobreexpresar el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFr o c-erb-B1). El fenotipo de estos cánceres de mama de pésimo pronóstico se denomina *basal* (por la expresión característica de citoqueratinas arriba referida), en contraposición con los de mejor pronóstico, que expresan receptores hormonales, no expresan tampoco c-erb-B2, y expresan un tipo de citoqueratinas característico de las células altamente diferenciadas que delimitan la luz de las glándulas mamarias (CK 8/18). Este fenotipo se denomina, en consecuencia, *luminal*. Finalmente existe un tercer tipo de cáncer de mama, de pronóstico intermedio, caracterizado por la expresión conjunta de receptores hormonales y el oncogén c-erb-B2, que suele ser más resistente al tratamiento hormonal, y un cuarto, en el que se expresa c-erb-B2 y no se expresan receptores hormonales, que presenta un pronóstico algo peor que el anterior (pero mejor que el de fenotipo *basal*).

En segundo lugar, los citados trabajos basados en el estudio prácticamente completo del genoma utilizando la técnica de *microarrays* han dado paso a su vez a grandes estudios de supervivencia, utilizando para ello material tumoral congelado de archivo, proveniente de pacientes tratadas con anterioridad y seguidas durante un periodo de tiempo muy amplio. De este modo, se ha podido comprobar, como veremos a continuación, que la determinación del perfil genético de cada tumor, para, a partir del mismo, encuadrarlo en un grupo de buen o mal pronóstico, supera, por primera vez, la capacidad predictiva en cuanto a la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad, de los factores pronósticos clásicos.

Uno de los hechos que más llama la atención es que ni la nueva clasificación molecular del cáncer de mama, ni el pronóstico definido por ninguna de las "firmas genéticas" identificadas, guardan ninguna relación con el hasta ahora más importante factor pronóstico clásico, la invasión ganglionar.

En el momento actual, están comercializados dos chips de cDNA distintos para la determinación de la "firma genética" del cáncer de mama, uno estadounidense, denominado Oncotype DX[®], y otro europeo, elaborado por el grupo de van't Veer y cols., denominado MammaPrint[®]. El desarrollo de ambos ha seguido caminos radicalmente opuestos: mientras el Oncotype DX[®] ha sido diseñado utilizando genes de los que previamente se conocía la implicación pronóstica en el cáncer de mama, el MammaPrint[®] se ha derivado del estudio del genoma de grupos de pacientes de cáncer de mama cuyo destino final era conocido. Es decir, lo que se hizo en este caso fue exactamente lo contrario del anterior: partir del pronóstico, y buscar genes asociados al mismo. Para sorpresa de los investigadores, los genes asociados al grupo de pacientes de excelente y de pésimo pronóstico, respectivamente, eran en gran parte o bien de función desconocida, o de función conocida, pero previamente no asociada al cáncer de mama. No obstante, los estudios de validación posteriores, realizados nuevamente sobre material de archivo de pacientes con seguimiento a largo plazo, confirmaron plenamente el poder discriminatorio en cuanto al pronóstico del MammaPrint[®]. Tan convincentes han sido dichos estudios, que la *Food and Drug Administration* estadounidense ha dado el visto bueno al sistema MammaPrint[®] para su uso clínico, en detrimento del sistema desarrollado en los propios EE. UU. (Oncotype DX[®]), hecho absolutamente insólito en la historia de la citada agencia.

La filosofía subyacente al diseño de ambas plataformas también ha sido radicalmente distinta. El chip Oncotype DX[®] consiste en la agrupación de 21 genes conocidos, cuya implicación individual en el cáncer de mama está refrendada por multitud de trabajos previos. El chip MammaPrint[®], por el contrario, procede del estudio "a ciegas" del genoma completo de tumores provenientes de pacientes con un seguimiento conocido y diametralmente opuesto: pacientes con larguísima supervivencia, frente a un grupo control de las mismas con parecidas características de partida, pero curso infausto de la enfermedad. Se trataba, en este caso, de identificar genes relacionados puramente con el pronóstico, asumiendo que, probablemente, muchos de ellos serían genes ya conocidos (tipo los incluidos en el chip Oncotype DX[®]), pero con la esperanza de identificar otros previamente no relacionados con el pronóstico de la enfermedad. Para gran sorpresa de los investigadores, estos últimos resultaron ser la abrumadora mayoría en el modelo final. Se obtuvo de este modo, en el caso del sistema MammaPrint[®], una plataforma con altísimo poder discriminatorio, mediante el estudio de la expresión de 70 genes, de muchos de los cuales incluso se desconoce la función precisa.

Otra diferencia llamativa entre ambos sistemas consiste en que el sistema MammaPrint[®] distingue tan sólo entre tumores de buen y mal pronóstico, mientras que el sistema Oncotype DX[®] divide a los tumores en tres grupos: con pronóstico bueno, intermedio y malo, respectivamente.

te, lo cual probablemente es menos práctico a la hora de tomar decisiones clínicas.

VALIDACIÓN DE LA PLATAFORMA ONCOTYPE DX®

Los resultados suministrados por la plataforma Oncotype DX® han sido validados en cuatro estudios publicados hasta la fecha. Sorprendentemente, sin embargo, no existe ningún trabajo publicado en que se compare en una misma población el pronóstico debido al índice de recidivas (*recurrence score*, RS) predicho por el perfil genético, y el predicho por los sistemas pronósticos convencionales. El resultado más interesante de estos estudios de validación es el proporcionado por Paik y cols. (5-8) (los diseñadores de la plataforma), que analizaron retrospectivamente una amplia cohorte de pacientes (651 casos) del estudio NSABP-P20. Según los datos obtenidos por ellos, las únicas beneficiarias reales del tratamiento adyuvante con quimioterapia en cuanto a mejora de la supervivencia y el intervalo libre de enfermedad eran aquellas mujeres cuyos tumores arrojaban un RS elevado, mientras aquellas con un riesgo mínimo de recidivas según la predicción del sistema Oncotype DX®, no se beneficiaban en absoluto del tratamiento quimioterápico complementario.

VALIDACIÓN DE LA PLATAFORMA MAMMAPRINT®

El propio grupo que desarrolló la plataforma procedió a una validación de los resultados que proporciona, utilizando para ello los tumores de su propio banco. Afortunadamente, en Holanda clínicos e investigadores supieron tener la visión de futuro necesaria, y comenzaron a preservar en nitrógeno líquido muestras de tumores décadas antes de que eclosionara su utilización para estudios genéticos. De este modo, van't Veer y cols. pudieron disponer de material procedente de enfermas con seguimiento cerrado a muy largo plazo. Más aún: a pesar de comprender la serie tumores de hasta 5 cm de diámetro (pT2), salvo 10 casos, ninguna de las 151 pacientes con ganglios negativos había recibido tratamiento adyuvante sistémico (ni quimio- ni hormonoterapia), algo impensable hoy en día. De este modo, el análisis pronóstico en el subgrupo de pacientes con ganglios negativos prácticamente revela el curso puro de la enfermedad, en ausencia de manipulaciones externas. Dividieron las muestras en dos grandes bloques: aquellas procedentes de enfermas que habían sobrevivido más de 5 años libres de metástasis, frente a aquellas procedentes de pacientes que habían desarrollado metástasis dentro de los 5 primeros años de seguimiento. A continuación, elaboraron curvas de supervivencia de Kaplan-Meier en función de la predicción pronóstica según criterios clásicos (NIH y St. Gallen), y

según el pronóstico suministrado por el análisis genético MammaPrint®. Los resultados fueron publicados en 2002 en el *New England Journal of Medicine* (4), y las curvas, que reproducimos a continuación en parte, son elocuentes: la firma genética fue significativamente superior a cualquiera de los dos consensos pronósticos internacionalmente aceptados, incluso subestratificando por categorías, y dicho poder pronóstico independiente se retuvo en el análisis multivariante.

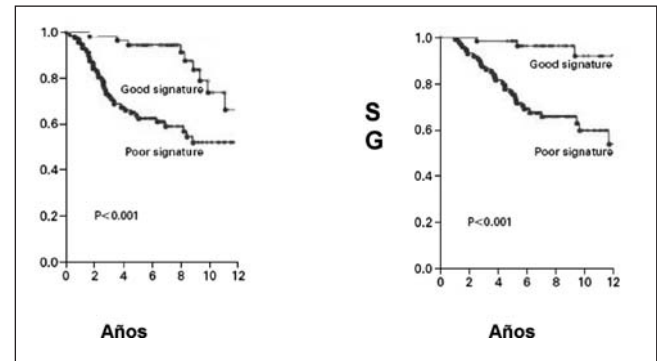


Fig. 1. Supervivencia libre de enfermedad (SLE) y supervivencia global (SG) en pacientes con ganglios positivos en función de la firma genética (MammaPrint®) (4).

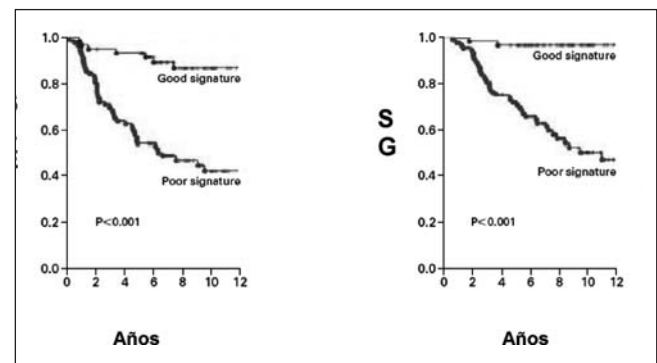


Fig. 2. Supervivencia libre de enfermedad (SLE) y supervivencia global (SG) en pacientes con ganglios negativos en función de la firma genética (MammaPrint®) (4).

Es más, dentro de los dos grupos definidos por dichos criterios de consenso, de buen y mal pronóstico, la firma genética fue capaz de discriminar de manera significativa entre aquellas pacientes que, efectivamente, se atienen a dicho pronóstico, y aquellas que lo rompen. Especialmente llamativo es el caso de los tumores de buen pronóstico según los criterios de St. Gallen: tumores de buen pronóstico, según dicho consenso sumamente estricto, son aquellos de diámetro hasta 1 cm, con receptores hormonales positivos y de grado histológico 1. Es decir, en la práctica se trata de los rarísimos carcinomas tubulares puros de menos de 1 cm, y de alguno más, todavía menos frecuente. En cualquier caso, nos atrevemos a afirmar

que, además de raros, todo el mundo estaría de acuerdo en que dichos tumores tienen un pronóstico intrínseco excelente (de hecho, en el caso de los tubulares puros hay quien cuestiona que se deba practicar estudio de la axila, o aún más, que se trate realmente de cánceres invasores propiamente dichos). Pues bien, incluso en dicho subgrupo de características excepcionalmente favorables, la firma genética analizada por el sistema MammaPrint® permite discriminar entre las pacientes que efectivamente van bien (la inmensa mayoría), y aquellas, rarísimas dentro de lo raro, que desarrollan metástasis y fallecen. Es cierto que dichas diferencias no alcanzan en la publicación del *New England Journal of Medicine* la significación estadística, precisamente por el bajísimo número de casos susceptible de ser analizado, pero en actualizaciones posteriores de los datos, con un seguimiento más prolongado, y presentadas en forma de *abstract* en el congreso de la Asociación Americana de Oncólogos Clínicos (ASCO), esta ya casi se logra. Sí es estadísticamente significativa, ya desde el inicio, la diferencia en el pronóstico de pacientes de bajísimo riesgo según los criterios del NIH, algo menos estrictos que los de St. Gallen (Fig. 3).

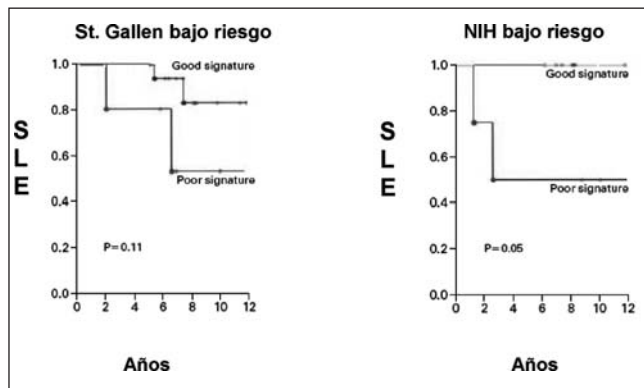


Fig. 3. Supervivencia libre de enfermedad (SLE) en pacientes de bajo riesgo según los criterios de St. Gallen (izquierda) y del NIH (derecha) en función de la firma genética (MammaPrint®) (4).

Una validación externa independiente adicional fue llevada a cabo por Buyse y cols. (9), y publicada en 2006 en el *Journal of the National Cancer Institute*. Se analizó, con la misma metodología, un número doble de pacientes, con respecto a la validación original del grupo holandés, todas ellas sin afectación ganglionar, procedentes de cinco grandes centros europeos, y se comparó la efectividad del pronóstico establecido por la firma genética con el pronóstico obtenido utilizando los criterios de St. Gallen, el programa informático *Adjuvant!* y el índice pronóstico de Nottingham. La firma genética fue, nuevamente, superior a cualquier otro de los sistemas pronósticos empleados en todos los aspectos contemplados en el estudio.

EL FUTURO INMEDIATO: LOS ENSAYOS MINDACT Y TAILORX

Aunque los datos de los estudios de validación arriba referidos son convincentes, no bastan para cambiar la práctica clínica convencional, y son necesarios ensayos prospectivos randomizados que demuestren que, efectivamente, la utilización de la firma genética para establecer el pronóstico de pacientes con cáncer de mama (y lo que es mucho más importante, para decidir sobre la base del pronóstico qué tratamiento administrarles) es superior a los criterios utilizados actualmente a tal fin. Todo ello tiene implicaciones que van más allá de la simple utilización de una nueva herramienta clínica: supondría el mayor cambio en el manejo del cáncer de mama desde la implantación de la cirugía conservadora como tratamiento quirúrgico de elección.

Dos grandes ensayos multicéntricos (el estudio MINDACT, *Microarray in Node-negative Disease may Avoid Chemotherapy* y el estudio TAILORX) (10,11) están ya en marcha, y de sus resultados dependerá en gran medida que la firma genética entre en la rutina clínica. El diseño del ensayo MINDACT es complejo, y ha sufrido desde el inicio varios cambios, hacia una complejidad todavía mayor, a fin de soslayar cualquier acusación de abandono de una práctica clínica establecida en favor de una alternativa todavía sin probar. Lo ideal para obtener respuestas lo antes posible hubiera sido randomizar a las pacientes directamente hacia ser tratadas según criterios clásicos, o en función del resultado de MammaPrint®. Como esto se consideró demasiado atrevido, e incluso en los límites de la ética, se optó por un diseño mucho más conservador, y que podríamos resumir de la siguiente manera: las pacientes se dividen en tres grupos. El primero estaría compuesto por aquellas en que tanto los criterios clásicos, como el resultado de MammaPrint® coinciden en “buen pronóstico”, el segundo por el caso opuesto, en que ambos coinciden en “mal pronóstico”. Ambos grupos serían tratados según protocolos establecidos (hormonoterapia en el primer caso, quimioterapia en el segundo). El tercer grupo es en realidad el que es objeto del ensayo propiamente dicho. Se trata de aquellas pacientes en que existe discrepancia entre los criterios pronósticos convencionales y los resultados de MammaPrint® (un 32% del total), y solo éstas serán a su vez randomizadas en dos grupos, uno de los cuales será tratado en función del pronóstico suministrado por MammaPrint®, mientras la otra mitad será tratada ateniéndose al algoritmo pronóstico tradicional. Todas estas precauciones conllevan un aumento considerable del número de pacientes que deben entrar en el ensayo para obtener respuestas válidas (se ha calculado en unas 6.000), y prolonga el intervalo hasta que se produzcan.

En cuanto al ensayo TAILORX, tiene programado reclutar 10.046 pacientes de hospitales estadounidenses y canadienses, portadoras de tumores N0 con receptores hormonales positivos. Las pacientes con un índice de re-

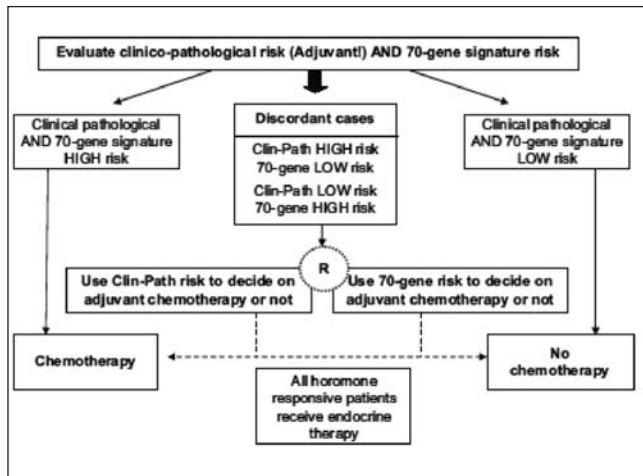


Fig. 4. Esquema original de diseño del ensayo MINDACT.

cidivas (RS) bajo recibirán únicamente hormonoterapia adyuvante, aquéllas con un RS alto recibirán quimioterapia más hormonoterapia, y las del grupo intermedio serán randomizadas hacia hormonoterapia sola o quimioterapia seguida de hormonoterapia.

En tanto no dispongamos de los resultados de los ensayos MINDACT y TAILORX, tan sólo podemos emplear estos tests como complemento de los factores pronósticos establecidos. La esperanza es que, en un futuro, si los resultados del ensayo son favorables, puedan sustituir completamente, y de forma ventajosa, a la batería pronóstica actual.

BIBLIOGRAFÍA

1. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumors. *Nature* 2000; 406: 747-52.
2. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 10869-74.
3. Van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002; 415: 530-6.

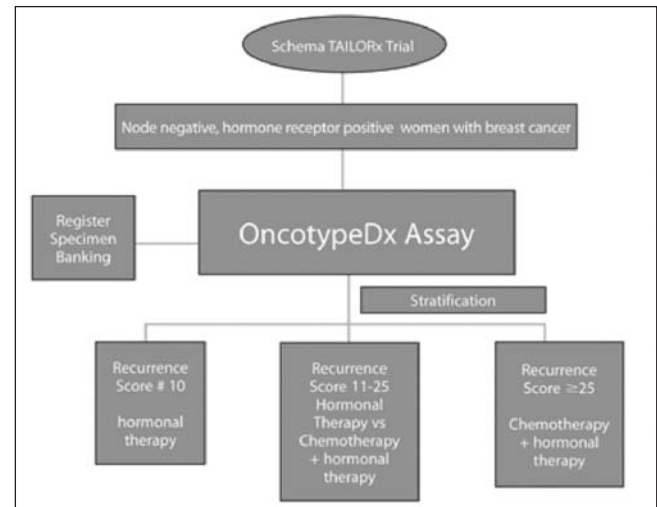


Fig. 5. Esquema de diseño del ensayo TAILORx.

4. Van de Vijver MJ, van't Veer LJ, Dai H, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 2002; 347: 1999-2009.
5. 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: 2817-226.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Buyse M, Loi S, van't Veer L, 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.
10. Bogaerts J, Cardoso F, Buyse M, 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.
11. Zujewski JA, Kamin L. Trial assessing individualized options for treatment of breast cancer: the TAILORx trial. *Future Oncol* 2008; 4: 603-10.