

## EDITORIAL

---

### CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL CÁNCER DE MAMA

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea compuesta por diferentes subtipos biológicos que poseen una evolución y respuesta terapéutica distinta. El desarrollo de sofisticadas técnicas que permiten efectuar el estudio de miles de genes simultáneamente, ha podido establecer el perfil molecular del carcinoma mamario.<sup>1</sup>

El perfil molecular basado en las variaciones de la expresión génica, es empleado para caracterizar por un lado al cáncer de mama más allá de los tradicionales criterios histopatológicos e inmunohistoquímicos; y por otro lado, como un factor de predicción de respuesta a la terapia.

La heterogeneidad celular y molecular del cáncer de mama, el gran número de genes involucrados en el control del crecimiento celular, su diferenciación y muerte, enfatizan la importancia de estudiar el conjunto de genes alterados durante este proceso. El perfil de expresión génica permite estudiar simultáneamente la expresión de miles de genes de las células del cáncer de mama. Futuras aplicaciones de estas técnicas de alto rendimiento podrán estudiar el perfil proteómico (proteoma), variabilidades en la línea germinal del genoma (oligonucleótidos), o el metabolismo celular (metaboloma).

Las técnicas denominadas de alto rendimiento como el *microarray* han permitido establecer el perfil genético o firma genética del tumor dando lugar a que Perou y col.<sup>2</sup> en el año 2000, establezcan una clasificación molecular del cáncer de mama, en base a genes relacionados con la expresión o no de los receptores de estrógeno (RE), lo cual define biológicamente distintos fenotipos que podrían derivar de diferentes células progenitoras. Siendo los mismos los siguientes subtipos: 1) luminales A y B, los cuales expresan genes asociados a las células epiteliales luminales; 2) sobreexpresión del HER-2; y 3) subtipos RE negativo, que comprenden los basales. Entre los basales actualmente se hallan los bajos en claudinas, ricos en interferón, con sobreexpresión de receptores de andrógenos y los normales.<sup>3</sup>

Los subtipo luminal A son tumores que poseen alta expresión de RE y de genes relacionados con activación del RE como son GATA3, el LIV1 y CCND1; baja expresión de HER-2 y de genes relacionados con la proliferación, entre ellos el Ki-67.<sup>4</sup> Comprenden el 30% a 40% de los tumores y son los que poseen mejor pronóstico.

Los subtipo luminal B son tumores que poseen bajos niveles de RE y de genes relacionados con el RE, alto grado de proliferación y frecuentemente la p53 mutada, pudiendo expresar también el HER-2. Comprenden el 20% de los tumores aproximadamente, siendo de peor pronóstico que los luminal A. Recientes evidencias sugieren que poseen caminos alternativos de factores de crecimiento como el receptor de factor de crecimiento fibroblástico 1, el HER-1, el polipéptido y el fosfoinositide 3-kinasa catalítico alfa, y el Src (oncogén tirosín kinasa descrito por primera vez en los sarcomas), los cuales pueden contribuir al alto grado de proliferación y mal pronóstico.<sup>5</sup>

El subtipo HER-2 enriquecido (denominado previamente subtipo HER-2 positivo RE negativo) representa el 10% al 15% de los cánceres mamarios y está caracterizado por una alta expresión de HER-2 y de genes de proliferación y baja expresión de los genes relacionados con los luminales y basales. Sin embargo, el subtipo HER-2 enriquecido no es sinónimo de cáncer de mama clínicamente HER-2 positivo. Solamente la mitad de ellos son HER-2 enriquecidos, la otra mitad puede incluir cualquier subtipo molecular, pero los que más predominan son los subtipos luminales. Aproximadamente el 30% de los HER-2 enriquecidos son clínicamente HER-2 negativo, a los cuales se le están aplicando terapias blanco y es posible que algunos representen mutaciones del HER-2 y otros eventos en las vías de señalización del HER-2, produciendo un fenotipo de expresión similar sin amplificación del HER-2 o sobreexpresión de la proteína.<sup>6</sup>

El subtipo basal representa el 15% al 20% de los carcinomas y está caracterizado por genes que poseen poca expresión de receptores hormonales y de HER-2 y alta expresión de genes de proliferación y de genes denominados basales. Este grupo de genes basales incluyen citoqueratinas pertenecientes a las células basales, como las citoqueratinas 5,14 y 17, el factor de crecimiento epitelial (EGFR), c-Kit, vimentina, P-caderina, fascina, caveolinas 1 y 2, y alfa beta cristalina.<sup>4</sup> Estos tumores son generalmente de alto grado histológico, son típicamente RE negativo, RP negativo y HER-2 negativo, por esta razón en la clínica se denominaron triple negativos; sin embargo, a pesar de que la mayoría de los tumores basales son triple negativos y la mayoría de los triple negativos son basales, existe una discordancia entre los mismos del 30%. Se ha observado una notable asociación entre este subtipo, la edad y la raza; son carcinomas que predominan en la premenopausia y en mujeres afroamericanas.<sup>7</sup>

Afortunadamente esta variedad de tumor responde muy bien a la quimioterapia, pero la ausencia de una terapia blanco continúa siendo un obstáculo para poder mejorar los resultados clínicos.

El subtipo bajo en claudinas corresponde al 5-10% de los carcinomas mamarios, se caracteriza por ser triple negativo, tener baja expresión de genes

relacionados con las claudinas 3, 4 y 7, las ocludinas y la E-caderina. También posee alta expresión de genes relacionados con la transición epitelio mesenquimal que están involucrados en la motilidad celular y metástasis. Una de las razones por la cual hay gran interés en este subtipo es que poseen células madre al igual que las halladas en la hiperplasia ductal atípica y en la tumorigénesis como la CD44/ CD/24.<sup>8</sup>

Son pocos los conocimientos que existen sobre las características clínicas de este subtipo bajo en claudinas, pero sí se ha hallado que se produce un aumento de este subtipo posterior a tratamientos neoadyuvantes con quimioterapia o inhibidores de la aromatasas. Otro grupo de investigadores también hallaron incremento de esta población de células tumorigénicas después de tratamientos neoadyuvantes con quimioterapia, pero no con lapatinib en pacientes HER-2 positivas. A diferencia del subtipo basal, este subtipo parece tener un lento crecimiento con características de células mamarias madre y mesenquimales, indicando que pueden ser de otro origen oncogénico. Los carcinomas metaplásicos y medulares suelen expresar este subtipo molecular.

El subtipo rico en interferón posee un mejor pronóstico dentro de los basales y se caracteriza por poseer alta expresión de genes relacionados con la inmunidad.

El subtipo con expresión de receptores de andrógenos en pacientes con carcinomas basales, posee su importancia desde el momento que se puede realizar una terapia blanco.<sup>9</sup>

Los tres estudios más importantes para establecer el perfil molecular son: el Score de Recurrencia derivado del Oncotype DX, el de 70 genes de Amsterdam (Mammaprint) y el Riesgo de Score de Recurrencia derivado del PAM 50.

En la evaluación de cualquier firma molecular es importante considerar diversos criterios como son: 1) ¿Fue la firma creada a partir de un conjunto de datos que es independiente de la firma de validación? 2) ¿Fue la firma validada en grandes estudios, prospectivos y multicéntricos? 3) ¿Qué información provee y qué población es apropiada para su validación? 4) ¿En cuál población debería ser usada y en cuál no? 5) ¿En qué medida refleja las variables de pronóstico comúnmente evaluadas (como ser los receptores hormonales) o provee información verdaderamente independiente?

La habilidad para detectar precozmente la posibilidad de recurrencia, es una limitación en la utilización del perfil molecular, debido a que esta estimación está en función de los datos aportados y la metodología utilizada en los mismos. Los perfiles moleculares han sido realizados en general en mujeres jóvenes (menores de 65 años), para predecir la posibilidad de realizar metástasis a distancia dentro de los 5 años, lo cual es menos probable que lo sea en las

pacientes mayores. Por lo tanto, se debe ser cauto cuando se extrapolan los resultados a poblaciones diferentes a las estudiadas.

El *Score* de Recurrencia (SR Oncotype DX) estudia 21 genes que predicen la posibilidad que la paciente presente una recidiva a distancia, se utiliza en pacientes que expresan RE positivos y poseen ganglios negativos; se realiza en tacos de parafina. Las pacientes presentan un *score* de 0 a 100 y se divide en tres grupos de riesgo: bajo (0-18); intermedio (19-31); y alto (>31). Pacientes con un alto *score* de riesgo son las que más se benefician con la quimioterapia y por el contrario, el grupo de pacientes con bajo riesgo no se benefician. El potencial beneficio de las pacientes con riesgo intermedio aún es incierto y esto se aclarará cuando se conozcan los resultados del estudio nivel de evidencia 1 denominado TAYLOR, en el cual las pacientes de riesgo intermedio se *rando-mizaron* en endocrinoterapia sola y en endocrino y quimioterapia.<sup>10</sup> Este *Score* de Recurrencia (SR) es aceptado actualmente para su realización por la Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO), el NCCN y el consenso internacional de St. Gallen.

Si bien donde más se utiliza este SR es en pacientes con ganglios negativos, el estudio SWOG demostró su utilidad en pacientes con 1-3 ganglios positivos, y deberíamos esperar para su utilización los resultados del estudio prospectivo del SWOT S1007 RxPONDER.

El Mammaprint o el perfil pronóstico de 70 genes de Amsterdam fue creado en el Instituto del Cáncer de Holanda. Es un test fundamentalmente de pronóstico y los 70 genes están focalizados en la proliferación, invasión, metástasis, integridad del estroma y angiogénesis, y es fundamentalmente de pronóstico, indicando bajo y alto riesgo. Aunque originalmente sólo se podía realizar en tejido fresco, actualmente también se efectúa en tejido fijado y está aprobado por la FDA.

El PAM 50 (Predictor Analysis of Microarray), estudia 50 genes y establece el Riesgo de *Score* de Recurrencia (ROR) adicionándole el tamaño tumoral; pudiendo estratificar pacientes con RE positivos en alto, mediano y bajo riesgo. Entre las ventajas que presenta es que se puede realizar en tacos de parafina y se utiliza fundamentalmente en Europa.

El Rotterdam/Veridex son 76 genes, el cual fue desarrollado evaluando 115 pacientes con ganglios negativos, que no recibieron quimioterapia adyuvante y tuvieron un seguimiento de 8 años, reconociendo la heterogeneidad del cáncer de mama, y pudieron separar genes de pronóstico para receptores negativos (16 genes) y 60 genes de pronóstico para receptores hormonales positivos. A pesar que otros estudios validaron estos hallazgos, pensamos que nuevos estudios deben confirmar estos resultados antes de desarrollarlos en la práctica clínica.

El Breast Cancer Index (BCI) es una combinación de dos perfiles, la expresión HOXB13 y IL17BR y el Índice de Grado Molecular (MGI), que es un set de 5 genes relacionados con el ciclo celular. El gen HOXB13 es un gen anti-apoptótico sobreexpresado en pacientes que toman tamoxifeno y presentan una recurrencia, y el gen de la interleuquina 17BR aumentado en mujeres que toman tamoxifeno independientemente de que si recurren o no. Comparado este perfil molecular con los factores de pronóstico tradicionales resultó poseer un factor de pronóstico independiente. Siendo una predicción de respuesta endocrina y de pronóstico, podría ser uno de los indicadores a utilizar cuando queremos saber si la hormonoterapia extendida estaría indicada, al predecirnos las recaídas tardías. En un estudio presentado en la última reunión de San Antonio<sup>11</sup> en pacientes pertenecientes al estudio ATAC se comparó el BCI, el Oncotype DX, el Inmunohistoquímico y los factores de pronóstico histopatológicos. Sólo el BCI pudo predecir las recaídas tardías.

Consideramos que conocer el perfil molecular mejora enormemente la evaluación de pronóstico, pero no reemplaza los factores de pronóstico tradicionales. Los test mejor validados y con utilización clínica actual son el Oncotype DX, el Mammaprint y el PAM50, los cuales se realizan en tacos de parafina. Si bien establecen el pronóstico de la enfermedad, ninguno indica cuál es el mejor régimen de quimioterapia a utilizar. El Oncotype DX establece un factor de pronóstico y predicción de respuesta a la quimioterapia; a diferencia de los otros dos test que sólo establecen un factor de pronóstico.

Recientes avances en el estudio de la secuencia del genoma, denominados secuencias de la próxima generación (NGS); han permitido estudiar con mayor profundidad el genoma del cáncer, lo cual podría ofrecerse al inicial perfil de expresión del genoma. Integrándose la información ya disponible con los otros perfiles moleculares resultantes de los procesos que afectan la expresión génica como son la epigenética, los micro RNA y el estudio de las proteínas, que es la última expresión del código genético.<sup>12</sup>

Una investigación realizada por The Atlas Genome Cancer Network<sup>13</sup> donde se utilizaron seis técnicas de alto rendimiento para determinar en 825 carcinomas mamarios el DNA, el RNA y el proteoma, confirma la existencia de los cuatro subtipos intrínsecos. Hallándose una única firma genética y molecular en cada subtipo, y que los carcinomas basales poseen genéticamente mucha similitud con los carcinomas de ovario. Esto indicaría que en el futuro no deberíamos tratar los carcinomas según el órgano donde se localiza, sino por las alteraciones genéticas que presenten.

Lo importante es saber cuándo está indicado solicitar estos test de perfil molecular debido a que su realización es de elevado costo y pocas pacientes poseen la capacidad de acceder. Mientras tanto en la práctica clínica diaria, no

debemos subestimar el informe histopatológico que sería el primer estudio que nos orientará en el pronóstico de la paciente. Realizando por inmunohistoquímica la clasificación biológica para poder establecer la respuesta terapéutica, determinando los receptores hormonales, el HER-2 y el Ki-67, permitiéndonos aproximarnos a la clasificación molecular y realizar un tratamiento personalizado a la paciente.

**Prof. Dr. Francisco E. Gago**

### Referencias

1. Mocellin S, Provenzano M, Rossi CR, et al. DNA array based gene profiling from surgical specimen to the molecular portraits of cancer. *Ann Surg* 2005; 241: 16-26.
2. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumors. *Nature* 2000; 406: 747-52.
3. Metzger-filho EJ, et al. Dissecting the heterogeneity of triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2012; 30: 1879-1887.
4. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinoma distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 10869-74.
5. Cheang MC, Chia SK, Voduc KD, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101: 736-50.
6. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA* 2006; 295: 2492-2502.
7. Lund MJ, Trivers KF, Porter PL, et al. Race and triple negative threats to breast cancer survival a population-based study in Atlanta GA. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 113: 357-70.
8. Hennessy BT, Gonzalez-Angulo AM, Stemke-Hale K, et al. Characterization of a naturally occurring breast cancer subset enriched in epithelial to mesenchymal transition and stem cells characteristic. *Cancer Res* 2009; 69: 4116-24.
9. McNamara KM, Yoda T, Takagi K, et al. Androgen receptor in triple negative breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2013; 133: 66-76.
10. Lo SS, Norton L, Mumby PB, et al. Prospective multicenter study of the impact of de 21 gene Recurrence Score (RS) assay on medical oncologist and patient adjuvant breast cancer treatment selection. In: ASCO Annual Meeting, Chicago, Illinois, June 4, 2007.
11. Sgroi D, Sestak I, Zhang Y, et al. Comparative performance of Breast Cancer Index (BCI) vs. OncotypeDx and IHC4 in the prediction of late recurrence in HR-positive, LN-negative breast cancer patients: a Trans ATAC study. San Antonio Breast Cancer Symposium. 2012, Abs tr S1-9.
12. Sparano JA, Ostrer H, Kenny PA. Translating genomic research into clinical practice: promise and pitfalls. ASCO Educational Book. 2013; pp.15-22.
13. The Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumor. *Nature* 2012; 490: 61-70.