

# Perfil de expresión multigénica en el pronóstico y tratamiento del carcinoma mamario. Un breve comentario

Danny Soria Céspedes,\* Carlos Ortiz Hidalgo\*

## RESUMEN

El carcinoma mamario es un grupo complejo de entidades biológicas con características patológicas y comportamiento específico. Para determinar el tratamiento y predecir pronóstico del carcinoma mamario se necesita saber el tipo, tamaño y grado del tumor, los márgenes quirúrgicos y el estado de los ganglios linfáticos, así como la expresión de los receptores de estrógenos, progesterona y Her2/neu. Perou y colaboradores han estudiado el perfil genético de carcinomas mamarios infiltrantes y los han subdividido en cinco tipos que incluyen: 1) Sobreexpresión de Her2/neu, 2) luminal A, 3) luminal B, 4) tipo basal, y 5) tipo normal. Estos grupos también pueden ser identificados por medio de inmunohistoquímica. La importancia de esta clasificación está en los diferentes pronósticos clínicos, siendo los tipos de sobreexpresión de Her2/neu y el tipo basal, los asociados a peor pronóstico. Recientemente, investigaciones genómicas han demostrado que las características moleculares de las neoplasias mamarias tienen implicación importante para el pronóstico y para la decisión terapéutica. Se ha desarrollado un estudio de multigenes que predice recurrencias y valora el beneficio de quimioterapia en un subgrupo de pacientes con carcinoma mamario. El estudio de 21 genes conocido como Oncotype DX® (Genomic Health) es una prueba de laboratorio con validación clínica que predice la posibilidad de recurrencia de cáncer mamario infiltrante en pacientes en estadios tempranos (RE positivos, y ganglios linfáticos negativos). Oncotype DX® analiza una serie de genes específicos para determinar el «score de recurrencia» que corresponde a la posibilidad de que el carcinoma mamario recurrira en los siguientes 10 años del diagnóstico inicial. Esta prueba mide la expresión de cada gen por la técnica RT-PCR utilizando ARN de tejido incluido en parafina. La genética molecular dará un mejor entendimiento de la biología de tumores y esta información puede ser usada para que clínicamente sean estos clasificados de una manera más precisa.

**Palabras clave:** Oncotype DX, genética molecular, carcinoma de mama, perfiles de expresión multigenética, genética.

## ABSTRACT

*Breast carcinoma is a complex group of distinct biological entities with specific pathologic features and biological behavior. Tumor type, tumor size, tumor grade, margin and nodal status along with estrogen receptors, progesterone receptors and Her2/neu expression are used to determine patient treatment and predict prognosis. Studying gene profiling for invasive breast carcinoma, Perou et al. have classified mammary carcinoma into five subtypes: 1) Her2/neu over expressing, 2) luminal A, 3) luminal B, 4) basal-like and 5) normal-like. These groups may also be identified using immunohistochemistry. The importance of this classification is the difference in clinical outcomes, with Her2/neu over expressing and basal-like, associated with poor prognosis. Recently genome research has provided evidence that the molecular features of individual breast cancer may have important implications for prognosis and therapeutic decisions. A multigene assay has been developed, that predicts recurrence and assesses the benefit from chemotherapy in a subset of patients with breast carcinoma. The 21 gene assay known as Oncotype DX® (Genomic Health) is a clinically validated laboratory test, that predicts the likelihood of breast cancer recurrence in women with newly diagnosed, early stage, (estrogen receptor positive and lymph node negative), invasive breast cancer. Oncotype DX® analyzes a specific set of genes within a tumor to determine a recurrence score that corresponds to a specific likelihood of breast cancer recurrence within 10 years of the initial diagnosis. The test measures the expression of each gene by quantitative RT-PCR using RNA from formalin-fixed, paraffin embedded tissue. Molecular genetic will provide a better understanding of the biology of individual tumors, and this information can be used to more accurately classify them in a clinically relevant manner.*

**Key words:** Oncotype DX, molecular genetics, breast carcinoma, multigene expression profile.

En la población femenina mayor de 25 años en México, el carcinoma de mama es la segunda causa de muerte por enfermedad neoplásica. De acuerdo con los datos proporcionados por el INEGI, la mortalidad por carcinoma de mama tiene una tendencia ascendente, con una tasa en el 2002 de 15.18 defunciones por 100,000 mujeres de 25 años, lo

\* Departamento de Patología, Centro Médico ABC.

Recibido para publicación: 15/08/08. Aceptado: 29/08/08.

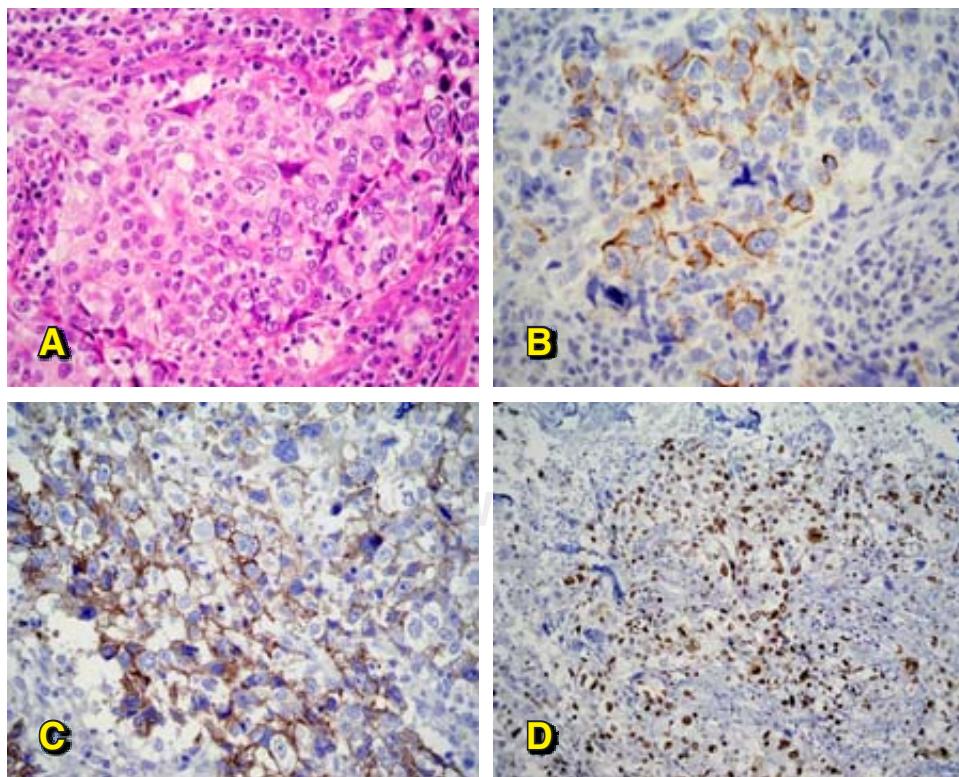
Correspondencia: Dr. Carlos Ortiz Hidalgo

Centro Médico ABC, Departamento de Patología. Sur 136 núm. 116, Col. Las Américas, 01120 México, D.F. E-mail: cortiz@abchospital.com

que representa la muerte diaria de aproximadamente 10 mexicanas por cáncer de mama.<sup>1,2</sup>

El carcinoma de mama es una neoplasia heterogénea desde el punto de vista clínico, morfológico, inmunohistoquímico y molecular, lo que ha dado origen a diversas clasificaciones, donde cada tipo de carcinoma presenta características histopatológicas y comportamiento biológico propio.<sup>3-5</sup> Desde el punto de vista molecular, se han identificado diversos genes potencialmente involucrados en el control del crecimiento, muerte y diferenciación celular. El estudio de estos genes en diversos tumores ha permitido, por un lado, comprender el comportamiento biológico de las muchas neoplasias y a través de la cuantificación de su expresión, ha sido posible, por otro lado, individualizar el pronóstico y el tratamiento de algunos pacientes.<sup>4,5</sup> Respecto al carcinoma mamario, por medio del estudio de los patrones de expresión de numerosos genes mediante microarreglos de ADN y su correlación con las distintas variaciones fenotípicas se ha realizado una clasificación molecular y se han dividido los carcinomas mamarios en cinco subtipos que son:<sup>3-5</sup> 1) subtipo con sobreexpresión de Her2/neu, 2) subtipo luminal A, 3) subtipo luminal B, 4) subtipo basal y 5) subtipo «normal» (normal-like). Del subtipo luminal B se ha identificado un pequeño subgrupo denominado luminal C, que tiene comportamiento clínico distinto al luminal B.<sup>3,5,6</sup> En esta clasificación cada subtipo expresa un determinado grupo de genes; por ejemplo, el subtipo de Her2/neu presenta alta expresión de varios genes localizados en el cromosoma 17q22.24, incluidos ERBB2 y GRB7, y expresión baja o nula de los receptores hormonales de estrógenos. El subtipo luminal A tiene elevada expresión para el gen de los receptores de estrógenos alfa, proteína de unión GATA-3, LIV-1, factor nuclear de hepatocitos alfa y otros. El luminal B presenta expresión baja a moderada de los genes luminales específicos, incluido el de receptores de estrógenos. El subtipo basal presenta sobreexpresión de los genes que expresan las células basales, demostrado por el fenotipo basal con expresión inmunohistoquímica de queratina (CK) 5/6, CK14, CK17, además de que no presenta expresión de receptores hormonales ni de los genes de Her2/neu (*Figura 1*). El subtipo normal, se le denomina de

presión de Her2/neu, 2) subtipo luminal A, 3) subtipo luminal B, 4) subtipo basal y 5) subtipo «normal» (normal-like). Del subtipo luminal B se ha identificado un pequeño subgrupo denominado luminal C, que tiene comportamiento clínico distinto al luminal B.<sup>3,5,6</sup> En esta clasificación cada subtipo expresa un determinado grupo de genes; por ejemplo, el subtipo de Her2/neu presenta alta expresión de varios genes localizados en el cromosoma 17q22.24, incluidos ERBB2 y GRB7, y expresión baja o nula de los receptores hormonales de estrógenos. El subtipo luminal A tiene elevada expresión para el gen de los receptores de estrógenos alfa, proteína de unión GATA-3, LIV-1, factor nuclear de hepatocitos alfa y otros. El luminal B presenta expresión baja a moderada de los genes luminales específicos, incluido el de receptores de estrógenos. El subtipo basal presenta sobreexpresión de los genes que expresan las células basales, demostrado por el fenotipo basal con expresión inmunohistoquímica de queratina (CK) 5/6, CK14, CK17, además de que no presenta expresión de receptores hormonales ni de los genes de Her2/neu (*Figura 1*). El subtipo normal, se le denomina de



**Figura 1.**

Cárcinoma ductal invasor «triple negativo» [RE (-), RP (-), Her2/neu 0+ (negativo)] con fenotipo tipo basal.

(A) Células neoplásicas malignas, pleomórficas, con límites celulares poco definidos y grado histológico alto (H&E, 400X). Con inmunohistoquímica muestran positividad a citoqueratinas «basaloïdes» (CK5/6) (B) y al receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) (C), con un elevado índice de proliferación medido con Ki 67, 50% (D).

esta manera porque expresan los mismos genes que el tejido mamario normal, con alta expresión de los genes de las células basales epiteliales y de tejido adiposo, además de una baja expresión del grupo de genes de las células luminales.<sup>3,5,7-10</sup> Lo anterior confirma, desde el punto de vista molecular, lo heterogéneo del carcinoma mamario.

La importancia práctica de la clasificación molecular del carcinoma de mama radica en el pronóstico de los pacientes. Los subtipos de peor pronóstico son aquellos que tienen sobreexpresión de Her2/neu y los de tipo basal que presentan un menor tiempo de supervivencia y menor tiempo libre de enfermedad. Además el subtipo basal tiene una elevada frecuencia de mutaciones del gen BRCA-1 y TP53.<sup>3,5</sup> De los subtipos luminales, el tipo A es el de mejor pronóstico, a pesar de que la expresión de los receptores de estrógenos sea variable. Los de peor pronóstico son del subtipo B + C, debido a que presentan mayor riesgo de recurrencia.<sup>5</sup> De manera interesante, cada subtipo tiene un comportamiento clínico distinto en cuanto a los sitios de recurrencia. Smid M y colaboradores<sup>6</sup> encontraron que los subtipos luminales presentan con mayor frecuencia recurrencia en hueso, a diferencia del subtipo basal que presentó recurrencia en mayor proporción en los pulmones y en el cerebro.

La genética molecular ha desarrollado nuevas técnicas de cuantificación de los perfiles de expresión genética que permiten de manera individualizada determinar el pronóstico y la posible respuesta al tratamiento hormonal y a la quimioterapia. Uno de los estudios moleculares que ha demostrado de manera independiente validez pronóstica y predictiva es la prueba conocida comercialmente como Oncotype DX® (Genomic Health, Redwood City, CA, USA), que mediante reacción en cadena de polimerasa-transcripción reversa (RT-PCR) en tejido incluido en parafina, analiza de manera cuantitativa el perfil de expresión de 21 genes, con el que se obtiene un índice o score de recurrencia (*Recurrence Score*) que determina el pronóstico y respuesta al tratamiento tanto hormonal como con quimioterapia en el grupo de pacientes que presentan positivi-

dad a los receptores de estrógenos y ganglios linfáticos negativos.<sup>11-13</sup>

En este grupo (receptores de estrógenos positivos y ganglios linfáticos negativos) que constituye aproximadamente el 50% de los carcinomas de mama, los criterios del uso adicional de quimioterapia no son concluyentes, por lo que existen pacientes «sobretratadas» y «subtratadas». Hay estudios que indican que de las enfermas que reciben únicamente tamoxifeno, sólo alrededor del 15% tendrán recurrencia de la enfermedad dentro de los siguientes 10 años; por tanto, si se aplica a todas las pacientes quimioterapia, el 85% estarían sobretratadas y expuestas a los efectos sistémicos y al elevado costo del tratamiento.<sup>11-14,15</sup> Es por este motivo que se desarrolló el estudio de expresión multigenética de 21 genes (Oncotype DX®).

Esta prueba fue validada inicialmente en 668 pacientes dentro de un estudio realizado por la NSABP (*National Surgical Adjuvant Breast and Bowel trial B-14*), en el que se hizo un análisis multivariado de edad, tamaño del tumor, grado histológico, estado hormonal y de Her2/neu; se encontró que solamente el grado histológico se correlacionó con el índice de recurrencia y que permitió predecir de manera significativa la recurrencia, el tiempo libre de enfermedad y la supervivencia. Posteriormente, esta prueba fue validada dentro del mismo grupo de estudio como un marcador predictivo para la respuesta a la quimioterapia y al tamoxifeno en 651 pacientes en el grupo NSABP B-20 y en 645 en el grupo B-14.<sup>12,16</sup>

Los 21 genes utilizados en la prueba de Oncotype DX® fueron seleccionados de un total de 250 genes estudiados en el carcinoma de mama, mediante tres distintos estudios, en los que los genes que presentaron mayor periodicidad e intensidad de expresión fueron los seleccionados. Es así que el Oncotype DX® evalúa 16 genes funcionales o relacionados al carcinoma y cinco genes de referencia, que son divididos en grupos<sup>11</sup> (*Cuadro I*).

Para efectuar esta prueba se utiliza tejido del carcinoma mamario incluido en bloques de parafina de donde se realiza la extracción de ARN y se aplica la transcriptasa reversa, con la obtención de un ADN complementario (cADN) que es

**Cuadro I.** Veintiún genes implicados en el Oncotype DX®.

Grupo de estrógenos	Grupo de Her2	Grupo de proliferación	Grupo de invasión	Otros	Referencia
ER	GRB7	Ki67	MMP11	GSTM1	Beta-actina
PGR	HER2	STK15	CTSL2	CD68	GAPDH
BCL2		Survivina		BAG1	RPLPO
SCUBE2		CCNB1			GUS
		MYBL2			TFRC

posteriormente sometido a reacción en cadena de la polimerasa (PCR), donde la expresión de cada gen es medido en triplicado y luego, de acuerdo a los cinco genes de referencia, son «normalizados». <sup>11</sup> A continuación, con un procedimiento estandarizado mediante fórmulas computarizadas, se mide el índice de recurrencia (RS: *Recurrence Score*), cuyos valores van del 0 al 100. Las pacientes se clasifican en tres grupos, el primero incluye las que presentan un índice de recurrencia menor a 18 (riesgo bajo), un grupo con índice de recurrencia entre 18 y 30 (riesgo intermedio) y el tercer grupo con índice de recurrencia mayor o igual a 31 (riesgo alto). <sup>14</sup>

De acuerdo al grupo de riesgo la probabilidad de recurrencia a distancia es de 2.1, 9.2 y 22.1% a los cinco años y de 6.8, 14.3 y 30% a los diez años, en los grupos de bajo, intermedio y alto riesgo, respectivamente. <sup>17</sup> Además, se pudo ver que en las pacientes que recibieron solamente tamoxifeno, el grupo de alto riesgo tuvo un porcentaje de recurrencia a los 10 años de 38.3%, el grupo de riesgo intermedio de 17.8% y el de bajo riesgo de 3.7%. En cambio las enfermas que recibieron combinación de tamoxifeno y quimioterapia tuvieron una recurrencia de 11.1, 10.1 y 5.0% en los grupos de alto, intermedio y bajo riesgo, respectivamente. Estos datos permiten concluir que las pacientes del grupo de bajo riesgo se benefician únicamente con el tratamiento hormonal, ya que no presentaron mejoría en el tiempo de recurrencia si se asoció con quimioterapia. En cambio, en el grupo de riesgo alto, el mayor beneficio se obtuvo con la asociación de tratamiento hormonal y quimioterapia. El grupo

problema es el intermedio, en el que el uso adicional de quimioterapia no demostró datos estadísticos significativos ni suficientes para su implementación. <sup>15-17</sup>

De acuerdo con Sparano y Paik, <sup>17</sup> hasta febrero del presente año se han realizado más de 40,000 casos y en el 25% de éstos el índice de recurrencia modificó el tratamiento, principalmente relacionado con terapia hormonal. Actualmente, en los Estados Unidos, el Instituto Nacional de Cáncer (NCI) está realizando un estudio de validación clínica prospectiva relacionado con los perfiles de expresión de estos 21 genes y su relación con la respuesta al tratamiento. En este estudio, denominado TAILORx (*Trial Assigning Individualized Options for Treatment*), utilizan distintos rangos en relación a los originales, donde a las pacientes con índice de recurrencia menor de 11 se les administra tratamiento hormonal, a las pacientes con índice de recurrencia mayor de 25 se les agrega quimioterapia y a las pacientes que tienen el índice de recurrencia entre 11 y 25, de manera aleatoria, se les administra hormonoterapia sola o combinada con quimioterapia. <sup>16-19</sup>

El costo de este estudio es elevado; sin embargo, hay trabajos que demuestran que el tratamiento guiado por el índice de recurrencia permite un ahorro global significativo comparado con el uso rutinario de tamoxifeno y quimioterapia combinados. <sup>16,20</sup>

En resumen, recientemente se ha demostrado la utilidad de los estudios de genética molecular tanto en la comprensión de la biología de las células neoplásicas como en el pronóstico y tratamiento individualizado en el carcinoma de mama.

## BIBLIOGRAFÍA

1. www.inegi.gob.mx
2. Piña OS, Ortiz HC. Biomarcadores como factores pronósticos y predictivos en carcinoma de glándula mamaria. Criterios de interpretación por inmunohistoquímica. Patol Rev Latinoam 2006; 44: 45-59.
3. Perou C, Sorlie T, Eisen M, et al. Molecular portraits of human breast tumours. Nature 2000; 406: 747-52.
4. Tang P, Wang J, Bourne P. Molecular classifications of breast carcinoma with similar terminology and different definitions: are the same? Hum Pathol 2008; 39: 506-513.
5. Sorlie T, Perou M, Tibshirani R et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguishes tumor subclasses with clinical implications. Proc Natl Acad Sci USA 2001; 98: 10869-10874.
6. Smid M, Wang Y, Zhang Y et al. Subtypes of breast cancer show preferential site of relapse. Cancer Res 2008; 68: 3108-1114.
7. Fadare O, Tavassoli F. The phenotypic spectrum of basal-like breast cancer: A critical appraisal. Adv Anat Pathol 2007; 14: 358-373.
8. Da Silva L, Clarke C, Lakhani S. Demystifying basal-like breast carcinomas. J Clin Pathol 2007; 60: 1328-1332.
9. Banerjee S, Reis J, Ashley S et al. Basal-like breast carcinomas: clinical outcome and response to chemotherapy. J Clin Pathol 2006; 59: 729-735.
10. Moll R, Franke W, Schiller D et al. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. Cell 1982; 31: 11-24.
11. Cronin M, Sangli C, Liu M et al. Analytical validation of the Oncotype DX genomic diagnostic test for recurrence prognosis and therapeutic response prediction in node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. Clin Chem 2007; 53: 1084-1091.
12. Flanagan M, Dabbs D, Brufsky A, Beriwal S, Bhargava R. Histopathologic variables predict Oncotype DX™ recurrence score. Mod Pathol 2008; 1-7.
13. Paik S, Shak S, Tang G et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. N Engl J Med 2004; 351: 2817-1826.
14. Paik S, Tang G, Shak S et al. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. J Clin Oncol 2006; 24: 3726-3734.
15. Fang L, Xu X, Zhai Y et al. Integrated gene expression profile predicts prognosis of breast cancer patients. Breast Cancer Res Treat 2008 (Epub ahead of print)
16. Lyman G, Cosler L, Kuderer N, Hornberger J. Impact of a 21-gene RT-PCR assay on treatment decisions in early-stage breast cancer. Cancer 2007; 109: 1011-1018.
17. Sparano J, Paik S. Development of the 21-gene assay and its application in clinical practice and clinical trials. J Clin Oncol 2008; 26: 721-728.
18. Dobbe E, Gurney K, Kiekow S et al. Gene-expression assays: new tools to individualize treatment of early-stage breast cancer. Am J Health Syst Pharm 2008; 65: 23-28.
19. Marchionni L, Wilson R, Wolff A et al. Systematic review: gene expression profiling assays in early-stage breast cancer. Ann Intern Med 2008; 148: 358-369.
20. Hornberger J, Cosler L, Lyman G. Economic analysis of targeting chemotherapy using a 21-Gene RT-PCR assay in lymph-node-negative, estrogen-receptor-positive, early-stage breast cancer. Am J Manag Care 2005; 11: 313-324.