

EXPERIENCIA EN LA UTILIZACIÓN DEL PERFIL GENÉTICO DE 70 GENES MAMMAPRINT

ÁLVARO GÓMEZ R, JUAN C RODRÍGUEZ, YAZMIN VELÁSQUEZ, JOSÉ MUÑOZ E, DILMERYS CASTRO, MIGUEL ESCALANTE, ANTONIETA RENNOLA

SERVICIO DE PATOLOGÍA MAMARIA SOH-IVSS. CARACAS, VENEZUELA

RESUMEN

OBJETIVO: Estudio prospectivo para evaluar la técnica, utilidad de la plataforma genética de 70 genes *mammaprint*, para de clasificar pacientes con cáncer de mama en alto y bajo riesgo para recaída a distancia a 10 años, comparar resultados con factores de riesgo pronósticos y predictivos tradicionales. **MÉTODO:** El *mammaprint* fue evaluado en muestras de piezas quirúrgicas en fresco de 16 pacientes tratadas entre mayo-octubre 2011, con diagnóstico de cáncer de mama estadios I-II. La muestra en fresco es tomada por los patólogos, enviada y procesada en Holanda. **RESULTADOS:** Grupo etario más frecuente: 61-70 años. 98,34 % de éxito en toma de muestras, las cuales fueron satisfactorias para practicar técnica genética. El 80 % de los casos fueron cirugías conservadoras de mama, 40 % pacientes con tumores menores de 2 cm y menos de 3 ganglios positivos (86,6 %). Pacientes con bajo riesgo y ganglios negativos fue el 26,66 %, alto riesgo tenían de 1 a 3 ganglios positivos en un 40 %. El subtipo molecular más frecuente 73 % fue el luminal, correspondiendo al 53,33 % de los pacientes de bajo riesgo. **CONCLUSIONES:** La técnica del perfil genético de 70 genes es una herramienta que puede ser realizada en nuestros centros, permite conocer el riesgo de recaída, identificar el subtipo molecular y disponer de una segunda opinión a los resultados de inmunohistoquímica de receptores hormonales y erb 2 neu, e individualizar el tratamiento de los pacientes con cáncer de mama.

PALABRASCLAVE: Cáncer, mama, genética, receptores, inmunohistoquímica, recaída.

SUMMARY

OBJECTIVES: Prospective study to evaluate the technical usefulness of the platform 70-gene *mammaprint* gene, in order to classify the breast cancer patients with high and low risk for relapse at 10 years distance, compare the results with prognostic risk factors and traditional predictors. **METHODS:** The *mammaprint* was tested in samples from fresh surgical specimens of 16 patients treated in the period May to October 2011, service SOH-IVSS breast disease, diagnosed with breast cancer stages I-II. Fresh sample is taken by pathologists, then sent and processed in the Netherlands. **RESULTS:** Age group most frequently between 61 and 70 years of age. We obtained a 98.34 % success in taking the samples, which were satisfactory for practicing genetic engineering. 80 % of cases were breast-conserving surgeries, 40 % of patients with tumors less than 2 cm and less than 3 positive nodes, 86.6 % of cases. Patients with low-risk node-negative was 26.66 %, high risk had 1 to 3 positive nodes in 40 %. The most common molecular subtype was luminal 73 %, corresponding to 53, 33 % of patients at low risk. **CONCLUSIONS:** The technique of the genetic profile of 70 genes or *Mammaprint* is a tool that can be performed in our centers, to understand the risk of relapse, identify the molecular subtype and have a second opinion as to the results of immunohistochemistry for hormone receptors and erb 2 neu, and individualize the treatment of patients with breast cancer.

KEY WORDS: Cancer, breast, genetic, receptors, immunohistochemistry, relapse.

Recibido:12/11/2012 Revisado:10/01/2013

Aceptado para publicación:15/03/2013

Correspondencia: Dr. Álvaro Gómez. Av. Dr. Alejandro Calvo Lairet, El Cementerio, SOH, IVSS. Caracas, Venezuela. Tel. +582126032185/ 2129934525. E-mail: gomezalvaro579@gmail.com

INTRODUCCIÓN

L

a prueba de *mammaprint* se desarrolló a partir del estudio de más de 25 000 genes de tumores malignos de mama de pacientes

que después de 10 años de seguimiento no habían recibido tratamiento sistémico alguno, se descubrieron los genes que estaban involucrados en el pronóstico y/o aparición de metástasis a distancia, concluyéndose con la utilización de un algoritmo informático: la firma genética de 70 genes. Van't Veer y col. ^(1,2) desarrollaron un perfil genético pronóstico de 70 genes con el cual identificar pacientes de bajo y alto riesgo que pueden desarrollar metástasis a distancia, una vez diagnosticados con cáncer de mama. Se evaluó en nuestro servicio la técnica y la utilidad de este perfil pronóstico de 70 genes (*mammaprint*) en un grupo de 16 pacientes con estadios clínicos I y II según clasificación TNM de la *American Joint Committee of Cancer (AJCC)* ⁽³⁾. En el presente estudio también fueron evaluados el *targetprint*, *blueprint* y *mammaprint* comparándolo con los factores pronósticos clínicos y patológicos ya conocidos para decidir tratamiento sistémico adyuvante en pacientes con diagnóstico de cáncer de mama, guías recomendadas por la *NCCN* ⁽⁴⁾ y *Saint Gallen* ⁽⁵⁾. Evaluamos y comparamos los diagnósticos por inmunohistoquímica de los receptores de hormonas estrógenos y progesterona, el erb 2 neu, con el *targetprint*. También evaluar la posibilidad de conocer por esta técnica los subtipos moleculares más frecuentes en estos 16 pacientes con diagnóstico de cáncer de mama estadio I y II. No fue motivo del estudio evaluar la decisión o no de tratamiento adyuvante sistémico en nuestras pacientes.

MÉTODO

El *mammaprint* fue evaluado en muestras de piezas quirúrgicas en fresco de 16 pacientes operadas en el período comprendido entre mayo y octubre de 2011, con el diagnóstico patológico de cáncer de mama (T1-T2-N0-3). A las pacientes se les practicó previo a la cirugía, biopsia mamaria percutánea guiada por imágenes, una vez establecido el diagnóstico, se procedió en forma prospectiva a seleccionar aquellas

pacientes estadios I - II clínicos, ingresadas al servicio SOH (IVSS), en el período antes señalado. Una vez tomada la muestra en fresco por el patólogo del servicio del SOH (IVSS), esta es enviada por el laboratorio Leti Ferrer[®] a Holanda para que se le practique estudio genético, para determinar riesgo de recaída a distancia a los 10 años, conocer estado de los receptores hormonales y erb 2 neu (*targetrint*) y conocer el subtipo molecular de los casos evaluados en el servicio de patología mamaria del SOH (IVSS) por el método de *blue print*.

RESULTADOS

Al revisar los resultados encontramos que el grupo etario más frecuente al que se le practicó el procedimiento de *mammaprint* corresponde al comprendido entre los 61 y 70 años de edad (Cuadro 1).

Cuadro 1. Grupos etarios.

Edad	Casos %
30 - 40	2 (13,33)
41 - 50	4 (28,57)
51 - 60	2 (13,33)
61 - 70	7 (46,6)
Total	15

El porcentaje de muestras suficientes para esta técnica fue del 98,34 %, y no fue suficiente en el 1,66 % por otra parte el 93 % de los casos corresponden a estadios tempranos I-II (Cuadro 2); en los cuales se determinó el riesgo de enfermedad a distancia, alto riesgo y bajo riesgo, no habiendo diferencias entre los dos grupos.

En cuanto al subtipo molecular genético más frecuente de los casos diagnosticados por esta técnica (*blue print*), correspondió al luminal en

Cuadro 2. Estadío TNM de los 15 pacientes a quienes se les practicó perfil genético de 70 genes

Estadio	Número de casos	%
Estadio I	4	(26,66)
Estadio II	10	(66,66)
Estadio III	1	(6,66)
Total	15	
(93 % estadio I-II)		

un 73,3 %, basal y erb 2 neu 13,40 % de los casos cada uno. Las técnicas quirúrgicas empleadas se visualizan en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Procedimientos quirúrgicos realizados a los 15 pacientes a quienes se les practicó perfil genético de 70 genes.

Tipo de procedimiento	Número de casos	%
MPO + GC	5	(33,33)
MPO + GC + DA	2	(13,33)
MRM MADDEN	2	(13,33)
MRM + RI	1	(6,66)
MPO + DA	5	(33,33)
Total	15	

MPO: mastectomía parcial oncológica. DA: disección axilar, MRM: mastectomía radical modificada. RI: reconstrucción inmediata, GC: ganglio centinela. (80 % tratamientos conservadores).

Con más frecuencia realizada fue en el 80 % tratamientos conservadores (mastectomía parcial oncológica con ganglio centinela y/o disección axilar), el 40 % de los casos fueron pacientes con tumores menores de 2 cm. En el 86,6 % las pacientes tenían menos de 3 ganglios positivos (Cuadro 4)

Cuadro 4. Número de ganglios positivos en la evaluación de la axila de los 15 pacientes a quienes se les practicó perfil genético de 70 genes.

Número de ganglios positivos	Casos	%
0	6	(40)
1 – 3	7	(46,6)
4 – 6	1	(6,66)
> 7	1	(6,66)
Total	15	

Al comparar los resultados del perfil genético de 70 genes con los factores pronósticos histológicos tradicionales, no encontramos relación entre el tamaño del tumor (Cuadro 5), el grado histológico de la lesión tumoral y el riesgo de recaída (alto o bajo); tenemos que riesgo alto fue para el 46,6 % y el 53,3 % riesgo bajo. La relación entre el tamaño del tumor y el riesgo de recaída a distancia están en el Cuadro 6. Aquellas pacientes con bajo riesgo de recaída fueron ganglios negativos (26,66 %), y las pacientes con alto riesgo para recaída a distancia, el 40 % presentaron de 1 a 3 ganglios axilares positivos (Cuadro 7).

Cuadro 5. Tamaño tumoral de los 15 pacientes a quienes se les practicó perfil genético de 70 genes mammaprint.

Tamaño mm	Número de casos	%
10 a 20	6	(40)
21 a 30	5	(33,3)
31 a 40	3	(20)
Más de 40	1	(6,66)
Total	15	

Cuadro 6. Relación entre el tamaño del tumor y riesgo de recaída a distancia según mammaprint

Tamaño tumor	Riesgo alto %	Riesgo bajo %
10 - 20	3 (20)	4 (26,66)
21- 30	2 (13,3)	2 (13,33)
31 - 40	2 (13,3)	1 (6,66)
> 40		1 (6,66)
Total	7 (46,6)	8 (53,33)

Cuadro 7. Relación entre el número de ganglios positivos para metástasis y el riesgo de recaída a distancia.

Número de ganglios	Riesgo alto %	Riesgo bajo %	Total %
0	2 (13,33)	4 (26,66)	6 (40)
1 – 3	6 (40)	1 (6,66)	7 (46,66)
4 – 6		1 (6,66)	1 (6,66)
> 7		1 (6,66)	1 (6,66)
Total	8(53,33)	7 (46,66)	15

Observamos en el Cuadro 8, que los pacientes receptores de estrógenos positivos y erb 2 neu negativos, corresponden al tipo molecular luminal (73,33 %) según el *blue print*, y en este

grupo Cuadro 9, los luminales, el 53,33 % son pacientes de bajo riesgo según el perfil genético de 70 genes.

Cuadro 8. Relación entre los receptores estrógenos, riesgo de recidiva y el subtipo molecular según técnica de mammaprint y blue print.

Receptores	Alto riesgo %	Bajo riesgo %	Luminal %	Basal	Erb 2 neu %
Positivos	5 (53,33)	7 (46,66)	11 (73,33)		1 (6,66)
Negativos	2 (13,33)	1 (6,66)		2 (13,33)	1 (6,66)
Total	7 (46,66)	8 (53,33)			

Cuadro 9. Relación tipo molecular y riesgo de recaída a distancia.

Tipo molecular	Riesgo alto %	Riesgo bajo %
Luminal	4 (26,6)	7 (46)
Basal	1 (6,66)	1 (6,6)
Erb 2 neu	2 (13,3)	0
Total	7 (46,6)	8 (53,3)

La relación entre el grado histológico y el perfil genético están representados en el Cuadro

10. Y la relación entre el erb 2 neu, el riesgo de recaída y el subtipo molecular en el Cuadro 11.

Cuadro 10. Relación entre el grado histológico carcinoma ductal infiltrante y el perfil genético de 70 genes mammaprint.

Grado histológico	Alto %	Bajo %
G1		1 (7,14)
G2	4 (28,57)	4 (28,57)
G3	3 (21,42)	2 (14,28)
Total	7 (50)	7 (50)

Cuadro 11. Relación entre erb 2 neu, riesgo de recaída y el subtipo molecular según técnica de mammaprint y blue print.

Erb 2 neu	Alto riesgo %	Bajo riesgo	Luminal %	Basal	Erb 2 neu
Negativos	5 (33,33)	8	11 (73,33)	2	
Positivos	2 (13,33)				2
Total	7	8			

DISCUSIÓN

El cáncer de mama es la patología oncológica más frecuente en el sexo femenino en los países desarrollados, diagnosticándose más de 1 300 000 casos nuevos al año ⁽⁶⁾. En Venezuela según el Anuario epidemiológico del Ministerio Popular para la Salud el carcinoma mamario es la segunda causa de muerte oncológica en la mujer venezolana, después del carcinoma de cuello uterino, se diagnostican casi 4 000 casos nuevos al año en nuestro país ⁽⁷⁾.

Recordemos que el cáncer de mama es una enfermedad heterogénea y compleja con diferentes comportamientos biológicos y clínicos ⁽⁷⁾. Las decisiones terapéuticas que se emplean para erradicar potencial enfermedad micrometastásicas así como evitar recaídas a

distancia, se han basado en los últimos años en unas larga serie de factores clínicos y patológicos, que incluyen la edad, tamaño tumoral, grado histológico, metástasis ganglionares axilares, invasión vascular, receptores de estrógeno y progesterona como también del estado del factor de crecimiento 2 (Her 2 Neu). Estos parámetros han sido incorporados en las guías de tratamiento *de Saint Gallen y del NCCN* ^(4,5).

En la era de la biología molecular, los diferentes análisis genéticos han permitido diferenciar algunos subtipos de cáncer mamario y, de esta manera, identificar las pacientes cuyos tumores van a responder a la quimioterapia adyuvante o no lo van a hacer ⁽⁸⁻¹⁰⁾.

Existen varios perfiles de expresión genética que pueden alterar el manejo clínico al poder identificar ciertos subtipos de cáncer mamario y, de esta manera, individualizar el manejo para

cada paciente, indicando las terapias que sean más efectivas y sin incluir aquellas para quienes la quimioterapia puede tener mínima eficacia⁽⁸⁻¹⁰⁾.

La técnica de micro disección de tejidos o *microarrays* permite conocer el perfil genético de los tumores, en especial de los tumores malignos del cáncer de mama, pudiéndolos clasificar según su expresión genética, el tipo molecular y sobre todo conocer el riesgo y la posibilidad que tiene esta enfermedad de recaída a distancia⁽⁸⁻¹⁰⁾.

En estudios recientes se ha utilizado esta técnica para clasificar al cáncer de mama según su perfil de expresión.

Dentro de los ensayos clásicos está el de Perou y col., quienes a través de un método denominado de tipo intrínseco y un método de microarreglos determinaron ADN y ARN m, logrando clasificar a los tumores mamarios en luminal A y B, basal, erb 2 neu familia y normales⁽¹¹⁾.

Otro estudio importante es el de Soitirou y col., sobre el grado del índice de expresión genética, se demostró que el cáncer mamario no es una enfermedad con características morfológicas y biomarcadores variables, sino más bien un grupo de alteraciones neoplásicas molecularmente distintas⁽¹²⁾. Los perfiles de expresión genética apoyan la hipótesis de que los cánceres de mama con receptores de estrógenos positivos o negativos se originan en distintos tipos celulares⁽¹²⁾.

En Venezuela en el ensayo clínico de Hernández y col., concluyen que el *mammaprint* es una herramienta de gran utilidad, que debe ser utilizada en forma complementaria a los factores

pronósticos tradicionales para decidir la conducta sistémica adyuvante⁽¹³⁾.

Uribe y col., publican su experiencia en la utilización de la técnica de *mammaprint*, mostrando un alto índice de muestras insuficientes 56,25 %, pero concluyendo con la importancia de disponer de esta técnica para individualizar los tratamientos⁽¹⁴⁾.

La utilización de la firma o plataforma genética de 70 genes o *mammaprint*, ofrece información adicional para decidir e individualizar el tratamiento sistémico en los pacientes con cáncer de mama, también permite reconocer grupos específicos de pacientes de alto y bajo riesgo para recidiva a distancia, y que esta plataforma nos permite tener una segunda opinión para evaluar los resultados de inmuno histoquímica de las piezas quirúrgicas.

El perfil o plataforma genética de 70 genes es una técnica que amerita que los patólogos estén involucrados en la toma de las muestras de los diferentes especímenes quirúrgicos, lo que se traducirá en el éxito de los resultados, demostrándolo nuestro estudio, basados en el alto porcentaje de muestras satisfactorias. No hay duda de que la utilización de los perfiles genéticos, en nuestro caso el de 70 genes, en conjunto con los factores pronósticos y predictivos clínicos e histológicos de riesgo para recaída a distancia, así como conocer lo heterogéneo de la enfermedad, traducido en el subtipo molecular del carcinoma mamario, permitirá al clínico un tratamiento individualizado de los pacientes con la finalidad de mejorar su pronóstico.

REFERENCIAS

1. Van de Vijer Mj, van't Veer IJ, Dai H, Hart AA, Voskuit D. A gene-expression signature is a predictor of survival in breast cancer. *New Engl J Med*. 2002;347(25):1999-2009.
2. van't Veer, Dai H, van de Vijver MJ, HE YD, Hart AA, Mao M, et al. Gene expression profiling predict clinical outcome of breast cancer. *Nature*. 2002;415:530-536.
3. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene

- FL, Trotti A, editores. AJCC cancer staging manual. Nueva York, NY: Springer; 2010.
4. [No authors list].NCCN Guidelines .Disponible en : URL : [http // www.nccn.org](http://www.nccn.org)
 5. Gnant M, Harbeck N, Thomnsen C. St Gallen 2011: Summary of the Consensus Discussion. Breast Care (Basel). 2011;6(2):136-141.
 6. WHO, International Agency for Research on Cancer. Cancer incidence and mortality in cancer. Globocan 2008. Disponible en: URL: <http://globocan.iarc.fr/>.
 7. Anuario de Mortalidad 2006. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Disponible en: URL: [http//www.mpps.gob.ve](http://www.mpps.gob.ve).
 8. Ramírez G. Predictores genéticos en cáncer mamario: Importancia de la prueba de 21 genes para predecir la tasa de recurrencia y la indicación de la quimioterapia. Rev Colomb Cir. 2010;25:300-308.
 9. Colombo EP, Milanezi F, Weigelt B, Reis-Filho J. Microarrays in the 2010s: The contribution of microarray-based gene expression profiling to breast cancer classification, prognostication and prediction. Breast Cancer Res. 2011;13:212.
 10. Kao-Jang K, Chang K, Hsu H, Huang A. Correlation of microarray -based breast cancer molecular subtypes and clinical outcomes: Implications for treatments optimization . BMC Cancer. 2011;11:143.
 11. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumors. Nature. 2000;406:747-752.
 12. Sotiriou C, Wirapati P, Loi S, Harris A, Fox S, Smeds J, et al. Gene expression profiling in breast cancer: Understanding the molecular basis of histologic grade to improve prognosis. J Natl Cancer Inst. 2006;98:262-272
 13. Uribe J, Rodríguez J, Melonascino F, Hernández C, Isturiz L, Márquez M, et al. Experiencia en la utilización del mammaprint en la clínica de mamas de Barquisimeto. Rev Venez Oncol. 2011;23(4):250-253.
 14. Hernández Muñoz G, Paredes R, Marín E, González Hernández J. Test de 70 genes en cáncer de la mama. Rev Senol Patol Mamar. 2010;30(Suppl 1):298.