

Valor predictiu de la Topoisomerasa II α en el càncer de mama localment avançat

La quimioteràpia neoadjuvant es va orientar inicialment en casos diagnosticats de càncer de mama localment avançat (CMLA), perfil de pacients amb mal pronòstic, en què l'aplicació de tractaments locals havia demostrat una eficàcia molt limitada. La introducció de la quimioteràpia primària va significar una millora substancial en els resultats d'aquestes pacients, especialment en els casos de càncer inflamatori, on les taxes de supervivència a 5 anys eren inferiors al 4% amb tractaments locals i augmentaven a un 20-70% amb tractament multidisciplinari.

Aquesta consolidada experiència de la quimioteràpia neoadjuvant en el CMLA, que partia de principis dels anys 80, ha evolucionat al llarg de la dècada dels 90 ampliant la seva indicació cap als tumors operables. Actualment disposem de molta informació clínica, procedent de potents estudis aleatoritzats, que ens permet situar aquest procediment terapèutic com una pràctica habitual en l'escenari multidisciplinari del tractament del càncer de mama inicial.

Les conclusions més significades dels estudis aleatoritzats de quimioteràpia primària versus quimioteràpia adjuvant es podrien resumir en uns pocs punts: obtenció d'una alta taxa de respostes clíniques, una baixa taxa de respostes completes patològiques, un efecte afavoridor de la indicació de tractament conservador, una tendència a la infraestadificació (basada en una reducció de la probabilitat d'afectació ganglionar axil·lar) i el fet de no comprometre la supervivència global. Hi ha altres aspectes també destacables: la quimioteràpia primària ofereix la possibilitat d'analitzar la sensibilitat *in vivo* del programa escollit, i permet estudiar factors predictius de la resposta.

S'han estudiat moltes variables predictives fins avui: mida tumoral, receptors hormonals, grau histològic, estatus axil·lar clínic, resposta clínica, factors de proliferació, p53, topoisomerasa II α , HER2, Bcl-2, etc. La mida tumoral se sol correlacionar amb la resposta clínica, però no sempre la resposta clínica es correlaciona amb la patològica. El nostre grup s'ha sumat a l'esforç d'investigació en factors pronòstics i predictius en el càncer de mama localment avançat, per la qual cosa seguidament resumirem la nostra experiència concreta del valor predictiu de la Topoisomerasa II α .

L'amplificació gènica de la Topoisomerasa II α (17q12) (TALP II α) sembla trobar-se directament lligada a l'amplificació del gen HER2/neu (17q11.2), que es troba contigu a aquest. El gen de la TALP II α codifica per a un enzim implicat en la replicació de l'ADN. Les antraciclins actuen com a inhibidores de l'acció de la TALP II α per la qual cosa s'ha proposat l'amplificació gènica de la TALP II α com a factor predictiu de la resposta quimioteràpica amb antraciclins. L'amplificació del gen HER2/neu comporta normalment una sobreexpressió del receptor de creixement cerb-B2 amb acció tirosinquinasa lligat a transformació oncogènica, pitjor pronòstic, resistència al tractament amb CMF i tamoxifè i millor resposta davant de les antraciclins.

Hem estudiat 45 malaltes amb càncer de mama localment avançat (estadis IIb-IIIb), mitjançant la tècnica d'hibridació *in situ* fluorescent (FISH), en seccions de teixit del material amb biòpsia amb agulla gruixuda (BAG) fixat en formol i inclòs en parafina. La tècnica de FISH la realitzem amb una barreja de tres sondes: una de centromèrica del cromosoma 17, i dues sondes de locus específic per als gens HER2/neu i TALP II α (Vysis Inc. Downers Grove, IL) La ràtio es va calcular dividint el nombre de senyals de cada gen entre el nombre de senyals centromèrics. Es considera ampliació si $r > 2$ i deleció si $r < 0,8$. Es van avaluar un mínim de 60 nuclis per cas. Els resultats es reflecteixen a la taula 1

D'una forma molt resumida podem dir que hem trobat una alta correlació entre l'amplificació de HER2/neu i l'amplificació de Topoisomerasa II α . No obstant això, no hem observat en la nostra sèrie correlació predictiva de la resposta a la quimioteràpia basada en antraciclins d'aquests dos biomarcadors, amb la limitació que suposa l'anàlisi d'una sèrie petita.

Josep M^o Corominas.

Servei de Patologia.

Ignasi Tusquets.

Servei d'Oncologia Mèdica.

Taula 1

	TOPOISOMERASA II α			
	HER2/NEU	Amplificat	Delecionat	Normal
AMPLIFICAT	13 (28,9 %)	10 (76,9 %)	2 (15,4 %)	1 (7,7 %)
NO AMPLIFICAT	32 (71,1 %)			32
TOTAL	45			

Programa de Prevenció Càncer de Mama

Maig'03

N. 13

Editorial: Últimes recomanacions dels experts en relació als programes de detecció precoç de càncer de mama

La detecció precoç mitjançant el cribratge amb mamografia és des dels anys vuitanta (i a Espanya als noranta) l'única intervenció que ha estat acceptada per tothom i que ha aconseguit una reducció de la mortalitat per càncer de mama en la població a la qual s'aplicava. Malgrat l'efectivitat demostrada en diversos estudis, en els últims dos anys s'han publicat uns nous resultats, que posen en evidència les discrepàncies relacionades amb l'efectivitat del cribratge de càncer de mama i qüestionen la continuïtat dels programes de cribratge implantats d'una manera generalitzada en els països desenvolupats. Davant d'aquests nous resultats la majoria d'experts i responsables dels diferents programes varem mantenir una conducta expectant, tot esperant noves avaluacions. En aquest context, l'Agència Internacional per a la Recerca del Càncer (IARC), amb seu a Lyon (França), va convocar 24 experts d'onze països en l'anomenat "Grup de treball en avaluació d'estratègies de prevenció del càncer", amb l'objectiu d'avaluar l'evidència existent sobre l'eficàcia de la prova de cribratge, valorar l'efectivitat de les intervencions específiques sobre la població definida, així com l'equilibri entre els riscos i beneficis en la població diana, i formular recomanacions d'accions de salut pública i per a investigacions futures. Després d'un treball rigorós i exhaustiu, el grup va concloure que la revisió dels estudis publicats demostrava l'eficàcia dels programes de cribratge en les dones de 50 a 69 anys. En canvi, hi havia una evidència limitada de la reducció de mortalitat en les dones de 40 a 49 anys. També van efectuar, entre altres, les següents recomanacions per a la investigació:

Respecte a la sensibilitat i l'especificitat de la mamografia convencional:

- Minimitzar la radiació que emet el mamògraf.
- Aplicació de sistemes de doble lectura o de lectura assistida per ordinador.
- Utilització de tàctiques per a millorar la interpretació (experiència i entrenament dels radiòlegs en la lectura).
- Valorar la incorporació de noves tecnologies de cribratge.

Respecte a l'acceptabilitat i la participació:

- Informar adequadament a les dones quant als riscos i beneficis, tenint en compte els diferents entorns culturals.
- Avaluar el cost-benefici del cribratge segons edat; especialment valorant l'inici als 45 anys.
- Cal implementar-los d'una manera gradual, per àrees geogràfiques o per cohorts de naixement.

Respecte a la precisió del cribratge:

- Cal investigar els efectes de la menopausa sobre la precisió del cribratge.

Respecte a les conseqüències del diagnòstic precoç en les dones amb càncer de mama, que allarga el període de temps en què la dona té coneixement d'haver tingut o tenir càncer, sense tenir en compte l'allargament de la vida:

- Estudiar la qualitat de vida de les dones diagnosticades i tractades de càncer de mama.

Respecte a la biologia dels tumors, la història natural de càncer de mama i la seva implicació en el cribratge no és del tot clara:

- Estudiar la història natural del carcinoma ductal *in situ*.

- Valorar l'impacte del diagnòstic i tractament del carcinoma ductal *in situ* sobre la incidència de càncer invasiu.
- El potencial de malignitat entre els tumors petits invasius és molt variat.
- Estudis sobre el valor predictiu que relacionin la histologia i els marcadors tumorals amb el comportament i resultat del càncer.
- Estudiar la possibilitat de trobar marcadors tumorals més predictius.

Adequant la periodicitat de la mamografia en les dones amb factors de risc:

- Identificar dones amb alt risc: antecedents familiars, resultats de proves genètiques, marcadors biològics, etc.
- Segons les característiques de les calcificacions i altres detalls de la imatge mamogràfica.

Respecte al sistema d'informació:

- Cal comptar amb sistemes d'informació que permetin obtenir indicadors d'incidència, mortalitat i supervivència de càncer de mama i del seu impacte en l'estat de salut de la població.
- Ha d'aportar indicadors de taxes de participació, de detecció, de càncers d'interval i de mortalitat.
- Estandarditzar els resultats de càncer segons estadis de càncer, grau histològic i grau de diferenciació per a tots els càncers, tant els invasius com els *in situ*.

Referència: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer.

IARC Handbooks of Cancer Prevention. Breast Cancer Screening. Vol 7. Lyon: IARC Press, 2002.

Montserrat Casamitjana

Unitat de Prevenció i Registre de Càncer



Ecografia Doppler color amb potenciador de senyal en un programa de cribatge del càncer de mama

Encara que la mamografia és l'única tècnica acceptada per al cribatge del càncer de mama, hi ha lesions de difícil catalogació mamogràfica que comporten un elevat nombre de biòpsies innecessàries, les quals podrien estalviar-se, en part, si ens ajudéssim amb altres tècniques diagnòstiques.

L'ecografia, àmpliament acceptada per diferenciar lesions sòlides i líquides, és especialment útil en l'estudi de dones joves o gestants, en mames operades i irradiades, i per a la guia de puncions percutànies donada la rapidesa i la innocuïtat de la tècnica i el fet que permet l'observació en temps real.

Encara que les característiques ecogràfiques que diferencien una lesió benigna d'una de maligna s'han clarament descrit, també és veritat que hi ha un significatiu nombre de lesions que no presenten l'aparença típica. Amb els nous equips d'alta resolució, amb transductors d'elevada freqüència, de 7.5 MHz o més, i amb les tècniques d'estudi Doppler color se n'està reavaluant el paper en el procés diagnòstic del càncer de mama.

Els vasos de tumors malignes es caracteritzen per trajectes irregulars, amb estenosis, oclusions, variacions de calibre i shunts arteriovenosos. Amb l'estudi de la vascularització tumoral mitjançant l'ecografia Doppler color s'intenta diferenciar entre lesions benignes i malignes.

S'ha estudiat el valor dels factors quantitius -índex de resistència (ANAR), índex de pulsatilitat (IP), velocitat mitjana i velocitat màxima sistòlica (VMS)- amb resultats dispars.

Per ajudar a l'estudi del flux vascular han sorgit els potenciadors de senyal. Són agents intravasculars que no tenen efectes indesitjables d'importància i que reforcen el senyal vascular, cosa que ajuda a detectar petits vasos, amb menors velocitats de flux, facilitant els estudis del flux vascular en els tumors i disminuint el nombre de pacients amb exploracions no conclouents.

L'objectiu del **PROJECTE ECEDPSE** (Estudi Comparatiu entre Eco-Doppler Color amb Potenciador de Senyal i Ecografia) és comprovar, mitjançant un assaig aleatori controlat, que l'ecografia Doppler color amb potenciador de senyal és útil en el diagnòstic dins d'un programa de cribatge de càncer de mama. Es compara l'especificitat, sensibilitat i eficàcia de les dues tècniques en aquells casos que la mamografia doni un resultat de sospita de malignitat, intentant, així, disminuir el nombre de biòpsies.

Les hipòtesis de treball són:

1. La sensibilitat de l'ecografia Doppler color amb potenciador de senyal és igual o més elevada que l'ecografia convencional.
2. L'ecografia Doppler color amb potenciador de senyal té una especificitat més gran que l'ecografia convencional.
3. L'ecografia Doppler color amb potenciador de senyal presenta un valor predictiu positiu (VPP) més alt que l'ecografia.

Subjects:

Dones participants en el programa de cribatge de càncer de mama dels districtes de *Ciutat Vella, Sant Martí i Gràcia*, dividides en dos grups: control i estudi.

Criteris d'inclusió:

Dones amb un o més nòduls mamaris en la mamografia de cribatge derivades per a exploracions complementàries al Servei de Radiologia de l'*Hospital de l'Esperança (Institut Municipal d'Assistència Sanitària de Barcelona)*.

Criteris d'exclusió:

- 1) Casos que en la mamografia únicament presenten patró càlcic.
- 2) Casos en què mitjançant projeccions addicionals es descarta l'existència de patologia.

Pèrdues:

Les pèrdues poden produir-se tant per rebuig de la dona a efectuar-se exploracions complementàries com per no-acceptació de la injecció del potenciador.

Instrumentació:

En el grup control es realitza una ecografia convencional. En el grup assignat a EDPS (grup estudi) es practica prèviament una ecografia convencional i després s'administra el potenciador de senyal. L'utilatge consisteix en un ecògraf d'alta resolució (LOGIQ 500, GE) amb sonda ecogràfica multifreqüència de 6 a 11 MHz amb Doppler color, i el potenciador de senyal és Levovist® (SH U 508 A, Schering AG, Berlin, Alemanya).

El Levovist® és un potenciador de senyal que conté micropartícules encapsulades d'un monosacàrid (galactosa) que en dissoldre's forma una matriu de bombolles d'aire de la mateixa mida, aproximadament 1.8 micres. Compleix les principals característiques que ha de tenir un potenciador de senyal, que són poder-se introduir en el sistema vascular, quedar-se estable mentre dura l'exploració i tenir una toxicitat baixa.

En tots dos grups, als casos amb resultat no-negatiu se'ls efectua una punció aspirativa amb agulla fina (PAAF).

Prèviament a la realització de l'ecografia Doppler color amb potenciador de senyal s'informa a la dona i se li sol·licita que firmi un full de consentiment.

La fase de recollida de dades va finalitzar el 31 de gener del 2003. Es van estudiar 1.558 nòduls: 778 del grup estudi i 780 del control. En aquest moment s'està procedint a l'anàlisi estadística dels resultats per a la seva pròxima publicació.

Antonio Clemente

Servei de Radiodiagnòstic



Estudi de susceptibilitat genètica en pacients amb síndrome familiar de càncer de mama. Anàlisi de mutacions en els gens BRCA1 i BRCA2

S'estima que el càncer hereditari representa entre el 5-10% dels casos de càncer de mama. La sospita de càncer de mama hereditari es fonamenta en patrons d'agregació familiar definits pel nombre de casos diagnosticats en una família, l'edat de presentació, l'expressió de bilateralitat i la coexistència d'altres neoplàsies relacionades com el càncer d'ovari. Aquestes característiques permeten qualificar el risc d'una síndrome hereditària que després podem constatar amb la investigació d'una mutació específica.

Es coneixen dos gens, **BReast CAncer (BRCA)1** i **BRCA2**, relacionats amb les dues grans síndromes hereditàries conegudes: síndrome de càncer de mama familiar i síndrome de càncer de mama/ovari familiar. S'ha descrit que mutacions en aquests gens poden jugar un paper molt important en molts dels tumors de mama amb un component familiar, tot i que no en tots, i se suposa que hi ha altres gens addicionals que també podrien estar implicats en la susceptibilitat genètica a desenvolupar un càncer de mama.

Gens BRCA1 i BRCA2

El gen **BRCA1** es localitza en el cromosoma 17q21 i es compon de 24 exons, 22 dels quals són codificants, distribuïts en unes 100 kb de ADN genòmic, que donen lloc a un sol transcrit de 7.8 kb, el qual en ser traduït genera una proteïna de 1863 aminoàcids. La majoria dels exons són petits, al voltant de 200 nucleòtids, però hi ha un exó més llarg, l'exó 11, que cobreix el 60% de la regió codificant.

El gen **BRCA2** es localitza en el cromosoma 13q14 i es compon de 27 exons, 26 dels quals són codificants, que donen lloc a un sol transcrit de 11-12 kb, el qual en ser traduït genera una proteïna de 3418 aminoàcids. Existeixen 2 exons de gran tamany, els exons 10 i 11, que representen el 60% de la regió codificant, i la resta són de menor grandària.

Les mutacions es produeixen al llarg de tot el gen, fet que dificulta el procés de detecció, i presenten característiques molt variables, com ara canvis en el marc de lectura, substitució d'un nucleòtid per un altre, insercions o aparició de codons de terminació. La majoria d'aquestes mutacions es tradueixen en la síntesi d'una proteïna BRCA1 o BRCA2 truncada.

L'aspecte més destacable dels resultats és l'ampli nombre i varietat de mutacions que poden alterar els gens BRCA1 i BRCA2.

Recentment al Servei de Patologia de l'Hospital del Mar s'han posat a punt les tècniques per estudiar les mutacions en els gens BRCA1 i BRCA2 mitjançant seqüenciació directa a partir d'ADN genòmic obtingut de sang perifèrica. Aquesta tècnica es considera el "gold standard" de les tècniques disponibles per realitzar aquest tipus d'estudis genètics, ja que presenta una sensibilitat del 100% en la detecció de mutacions de substitució, així com petites delecions o insercions, sense falsos negatius ni falsos positius, a diferència del que pot succeir amb altres tècniques utilitzades en el pre-screening, i que per tant sempre s'han de complementar amb la seqüenciació directa.

Per analitzar la seqüència completa dels dos gens s'amplifiquen els 22 exons codificants de BRCA1 i els 26 exons codificants de BRCA2 mitjançant 32 i 54 reaccions de PCR respectivament. Aquests productes de PCR són seqüenciats i analitzats en un seqüenciador automàtic.

Les seqüències obtingudes per cada malalt es comparen amb la seqüència salvatge. En cas que es detectin mutacions es consulta la base de dades del BIC (Breast Information Core; http://www.nhgri.nih.gov/Intramural_research/Lab_transfer/Bic/) per determinar l'efecte de la mutació trobada.

L'estudi s'inicia pel gen BRCA1 i la seqüència dels gens s'analitza fins que es troba una mutació que genera una proteïna truncada o no funcional.

La taxa de detecció de mutacions en aquests 2 gens en les pacients d'alt risc oscil·la entre un 18% i un 27% de casos.

Tenint en compte les dificultats tècniques del procediment de detecció de mutacions, és necessari seleccionar adequadament en l'àmbit d'una Unitat de Consell Genètic els pacients que requereixen aquest estudi.

Beatriz Bellosillo

Laboratori de Citogenètica i Biologia Molecular. Servei de Patologia