

Premios y Becas

Predicción de la Respuesta a Docetaxel o Doxorubicina en Cáncer Primario de Mama Mediante Modelos Unigénicos y Poligénicos

*Dr. Miguel Martín
Servicio de Oncología Médica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain.
Estudio Financiado en parte con una BECA SEOM 2007*

Introducción

Taxanos y antraciclinas son los fármacos más eficaces en cáncer de mama y han mostrado su capacidad para incrementar la supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global cuando son usados como tratamiento adyuvante (1,2). El beneficio en supervivencia global en términos absolutos es sin embargo escaso (antraciclinas: 4% de incremento a 10 años; taxanos: 4-5% a 5 años) (2-10). Además, estos fármacos pueden producir efectos secundarios agudos muy molestos e incluso amenazantes para la vida.

Finalmente, las antraciclinas pueden generar daño cardíaco clínico irreversible y leucemias. Por ello, es necesario identificar el grupo de pacientes con cáncer de mama que realmente se benefician de antraciclinas y taxanos.

Para intentar definir predictores de respuesta a taxanos y antraciclinas, diseñamos un estudio neoadyuvante aleatorizado fase II que comparó dichos fármacos administrados en monoterapia.

Pacientes y Métodos

Los criterios detallados del estudio han sido ya publicados (7,8). El estudio fue aprobado por el comité ético de los centros y registrado en www.clinicaltrials.gov (NCT 00123929). En síntesis, mujeres con cáncer de mama estadios IIB a IIIB no candidatas a cirugía conservadora fueron aleatorizadas para recibir cuatro ciclos de:

- doxorubicina, 75 mg/m² cada 3 semanas.
- docetaxel, 100 mg/m² cada 3 semanas, con soporte G-CSF.

Tras el cuarto ciclo se procedía a la cirugía y, tras ella, las enfermas recibían el fármaco opuesto asociado o no a trastuzumab, radioterapia y hormonas como estuviera indicado.

El estudio asumía igual eficacia y tenía como objetivo primario la identificación de marcadores predictivos de respuesta. Se realizaron determinaciones inmunohistoquímicas en las biopsias prequimioterapia para determinar posibles predictores unigénicos: RE, RP, HER2, topo2alfa, Ki67, y p27. El número de copias de los genes de HER2 y topo2alfa fue cuantificado por FISH. Las enfermas fueron clasificadas en subtipos intrínsecos de Perou de acuerdo con un panel inmunohistoquímico previamente definido (12,13):

- luminal A: ER+ y/o PR+, HER2- (FISH), Ki67 ≤13%.
- luminal B: ER+ y/o PR+, y bien HER2+ (FISH) o Ki67 >14%.
- HER2: ER- y PR-, HER2+ (FISH).*

* Although it's not a big difference, the cut-off is 14% not 13%, if you are citing the JNCI paper

- Triple-negativo: ER-, PR- y HER2- (FISH).

Asimismo, se clasificaron en subtipos intrínsecos con metodología de microarrays de cDNA, aplicando la plataforma PAM50 (14) y posteriormente un cribado para claudin-low (15).

Evaluación de la respuesta

La respuesta patológica fue evaluada en el espécimen quirúrgico (mastectomía o tumorectomía más linfadenectomía axilar). La respuesta patológica se definió de acuerdo con el sistema RCB (Residual Cancer Burden) classification of Symmans et al (16). Esta clasificación establece 4 categorías de respuesta patológica: PCR o 0 (respuesta completa patológica en mama y axila), clase I, clase II y clase III. Los tumores residuales clase 1 presentan solo enfermedad microscópica sin afectación axilar y tienen el mismo pronóstico que los 0, por lo que se analizan juntos, considerándose buena respuesta patológica a las clases 0+1. La clase III indica extenso tumor residual, por lo que corresponde a enfermedad quimiorrefractaria y tiene muy mal pronóstico. La clase II es una categoría de quimiosensibilidad y pronóstico intermedio entre ambos extremos. La clasificación de Symmans, a cuya fórmula matemática se puede acceder por internet en la página web del MD Anderson, tiene una ventaja adicional: proporciona una variable continua de RCB (Carga Tumoral Residual), que va desde 0 hasta más de 5, lo que permite análisis más sofisticados.

Las pacientes que presentaron clara progresión de la enfermedad durante la quimioterapia neoadyuvante y no pudieron operarse fueron clasificadas como Symmans III.

Resultados

Entre las 204 pacientes evaluables, los predictores significativos de buena respuesta patológica a la quimioterapia (clase 0 y I de Symmans) (16) en análisis multivariable se reseñan en la Tabla 1. Una baja expresión de topo2a y negatividad de ER fueron predictores de respuesta a doxorubicina, mientras que negatividad de ER y gran tamaño tumoral lo fueron de docetaxel.

Tratamiento	Variables	OR Ajustado	95%CI	P
Doxorubicina	Baja Expresión de Topo2a (IHC)	10.38	1.95-55.15	0.006
	Estado ER-negativo	4.64	1.40-15.31	0.012
Docetaxel	Tamaño del Tumor T2	13.38	3.42-56.29	<0.001
	E estado ER-negativo	8.32	2.25-30.73	0.001

Tabla 1. Análisis Multivariable (regresión logística) de los factores predictivos de buena respuesta patológica.

Los predictores de resistencia a quimioterapia (clase III de Symmans, Tabla no mostrada) fueron estado triple negativo por IHQ/FISH para doxorubicina y elevado TNM para docetaxel.

La Figura 1 recoge la correlación entre expresión de la proteína topo2a y la buena respuesta patológica.

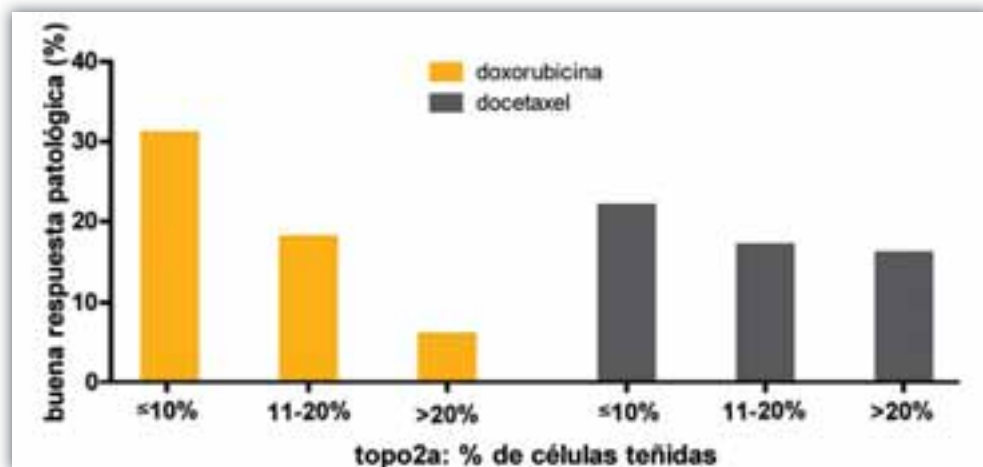


Figura 1. Correlación entre buena respuesta patológica y expresión de topo2a. Las diferencias entre categorías son estadísticamente significativas en el caso de la doxorubicina ($p=0,017$) pero no en el caso del docetaxel ($p=0,778$, Pearson chi-squared test).

La respuesta de acuerdo con el tipo intrínseco establecido por IHQ/FISH se recoge en la Tabla 2. Las pacientes triple negativas tratadas con doxorubicina tuvieron un porcentaje significativamente más alto de tumores resistentes a quimioterapia y mayor carga tumoral final con respecto a las tratadas con docetaxel. Asimismo, la tasa de buenas respuestas patológicas en el subgrupo triple negativo fue superior con docetaxel que con doxorubicina (29% frente a 10%) aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa.

	Buena respuesta patológica (pCR+clase I)			Mala respuesta patológica (clase III)			Carga tumoral residual (media±SEM)		
	doxorubicina	docetaxel	P	doxorubicina	docetaxel	P	doxorubicina	docetaxel	P
Luminal A	3/18 (17%)	2/18 (11%)	1.000	7/18 (39%)	7/18 (39%)	1.000	2.622±0.3667	2.572±0.2915	0.680
Luminal B	9/55 (16%)	6/42 (14%)	0.779	20/55 (36%)	13/42 (31%)	0.709	2.593±0.1776	2.621±0.1689	0.878
Her2	6/11 (55%)	4/12 (33%)	0.414	2/11 (18%)	3/12 (27%)	1.000	1.809±0.477	2.075±0.3568	0.557
Triple-negativo	2/20 (10%)	8/28 (29%)	0.160	14/20 (70%)	9/28 (32%)	0,010	3.255±0.3291	2.232±0.2913	0.030

Tabla 2. Actividad antitumoral de doxorubicina y docetaxel de acuerdo con los subtipos intrínsecos (IHQ/FISH).

En 94 pacientes pudo obtenerse suficiente mRNA para clasificar a los tumores mediante cDNA microarrays (PAM50 + claudin low).

La Figura 2 recoge el heatmap de esas pacientes. Diez y siete fueron clasificadas como luminal A, 24 Luminal B, 11 HER2-enriched, 17 Basal-like, 9 Normal-like, y 16 Claudin-low.

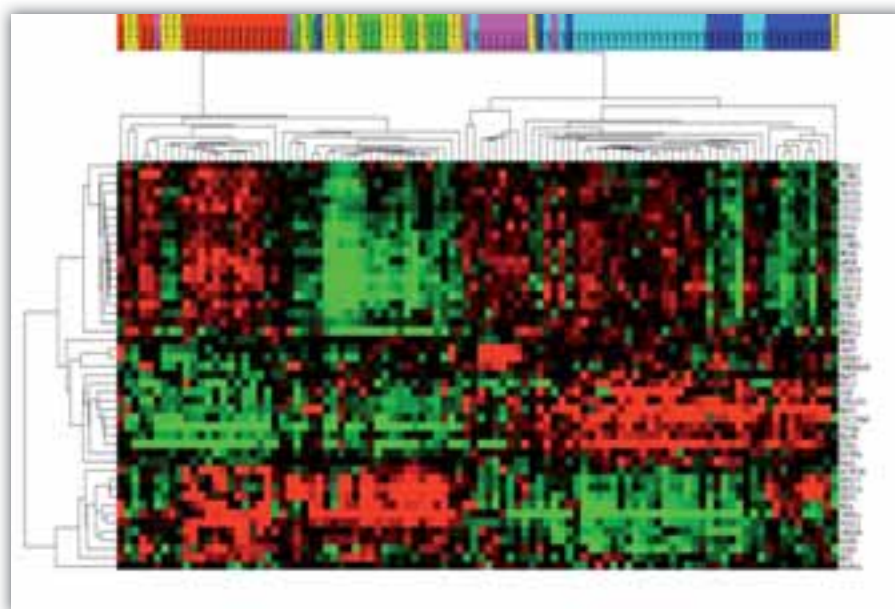


Figura 2. Heatmap de las pacientes incluidas en el estudio.

La Tabla 3 recoge la correlación entre actividad antitumoral y subtipos intrínsecos determinados por microarrays de cDNA. Docetaxel fue de nuevo claramente superior a doxorubicina en el tipo Basal-like (tasa significativamente más alta de buenas respuestas patológicas, menor carga tumoral residual), pero no en los demás subtipos.

	Buena respuesta patológica (PCR + clase I)			Mala respuesta patológica (Clase III)			Carga tumoral residual (media±SEM)		
	doxorubicina	docetaxel	P	doxorubicina	docetaxel	P	doxorubicina	docetaxel	P
Luminal A	1/12 (8%)	0/5 (0%)	NS	8/12 67%	2/5 40%	0.593	3.386±0.343	2.839±0.345	NS
Luminal B	2/13 (15%)	0/11 (0%)	NS	2/13 15%	4/11 36%	0.357	2.220±0.334	2.806±0.274	NS
Her2-enriched	1/6 (17%)	2/5 (40%)	NS	4/6 67%	1/5 20%	0.242	3.088± 0.674	1.670±0.792	NS
Basal-like	0/8 (0%)	5/9 (56%)	0.029	5/8 (62%)	2/9 22%	0.153	3.245±0.483	1.626±0.499	0.039
Claudin-low	3/11(27%)	1/5 (20%)	NS	6/11 (54%)	2/5 40%	1	2.626± 0.535	2.538±0.728	NS
Normal	1/4 (25%)	2/5 (40%)	NS	1 /4 25%	3/5 60%	0.524	2.183±0.766	2.821±0.639	NS

Tabla 3. Actividad antitumoral de doxorubicina y docetaxel en los subtipos intrínsecos (Agilent cDNA microarrays).

El significado de la amplificación y sobreexpresión de topo2a es incierto. En nuestro estudio no existió correlación entre ambos, probablemente porque existe una regulación postranscripcional de la expresión de topo2a. La Figura 3 recoge las relaciones entre alteraciones del número de copias del gen de topo2a, la expresión génica, la expresión proteica y los subtipos intrínsecos. La máxima expresión de topo2a se encuentra en los tumores más proliferativos (basal, her2. enriched y luminal B).

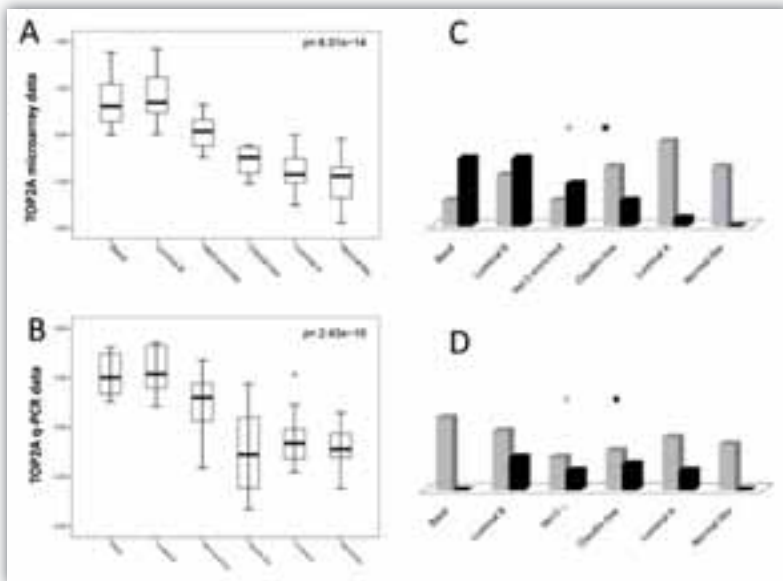


Figura 3. Relaciones entre mRNA medido por expresión génica en microarrays (A) o cuantificación de mRNA (B) y subtipos intrínsecos. C Y D analizan la relación entre expresión proteica de topo2a y alteraciones en número de copias del gen y subtipos intrínsecos.

Conclusiones

Los factores que fueron predictores de sensibilidad a la doxorubicina fueron negatividad de ER y baja expresión de topo2a, mientras que los predictores de respuesta a docetaxel fueron negatividad ER y gran tamaño tumoral. La sobreexpresión de topo2a probablemente indica una elevada actividad proliferativa. *Docetaxel fue claramente superior a doxorubicina en tumores basales y triple negativos. De hecho, el único predictor independiente de Resistencia a doxorubicina fue el estatus triple negativo**.

* Seems like repeating what you just said in the Results Section? Consider to rephrase like...

**I am not 100% sure, if this is about testing the interaction term?

Aplicaciones Prácticas

Este estudio apoya otros de la Literatura que sugieren que la doxorubicina es poco activa en los tumores basal-like/triple negativo, mientras que los taxanos parecen ser muy activos en estos tumores. El grupo GEICAM intentará probar esta hipótesis prospectivamente en un estudio neoadyuvante que comparará docetaxel-carboplatino con el estándar ACx4→docetaxel o paclitaxel.

Comunicaciones y Publicaciones

Este estudio fue presentado oralmente en la reunión de ASCO de 2010 y en el Congreso de la SEOM del mismo año.

Ha generado por el momento las dos publicaciones siguientes:

1.Martin M, Romero A, Cheang MCU et al. "Genomic predictors of response to doxorubicin versus docetaxel in primary breast cancer" Breast Cancer Res Treat. 128: 127.136, 2011.

2.Romero A, Martin M, Cheang M et al. "Assessment of topoisomerase II α status in breast cancer by quantitative PCR, gene expression microarrays, immunohistochemistry and in situ fluorescence hybridization. American J Pathol 4: 178: 1453-1460, 2011.

Referencias

1. Polychemotherapy for early breast cancer: an overview of the randomised trials. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. *Lancet* 1998;52(9132):930-42.
2. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet* 2005;365(9472):1687-717.
3. Henderson IC, Berry DA, Demetri GD, et al. Improved outcomes from adding sequential paclitaxel but not from escalating doxorubicin dose in an adjuvant chemotherapy regimen for patients with node-positive primary breast cancer. *J Clin Oncol* 2003;21:976-83.
4. Mamounas EP, Bryant J, Lembersky BC, et al. Paclitaxel after doxorubicin plus cyclophosphamide as adjuvant chemotherapy for node-positive breast cancer: results from NSABP-B 28. *J Clin Oncol* 2005;23:3686-96.
5. Martin M, Pienkowski T, Mackey J, et al. Adjuvant docetaxel for node positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005;352:2302-13.
6. Roche H, Fumoleau P, Spielmann M, et al. Sequential adjuvant epirubicin-based and docetaxel chemotherapy for node-positive breast cancer patients: The FNCLCC PASC 01 Trial. *J Clin Oncol* 2006;24:5664-71.
7. Jones S, Holmes FA, O'Shaughnessy JO et al. Docetaxel with cyclophosphamide is associated with an overall survival benefit compared with doxorubicin and cyclophosphamide: 7-year follow-up of US Oncology Research Trial 9735. *J Clin Oncol* 2009;27:1177-83.
8. Martin M, Rodriguez-Lescure A, Ruiz A, et al. Randomized phase 3 trial of fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide alone or followed by paclitaxel for early breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:805-14.
9. Francis P, Crown J, Di Leo A, et al. Adjuvant chemotherapy with sequential or concurrent anthracycline and docetaxel: Breast International Group 02-98 randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 2008;100(2):121-33.
10. Gianni L, Baselga J, Eiermann W. Phase III trial valuating the addition of paclitaxel to doxorubicin followed by cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil as adjuvant or primary systemic therapy: European Cooperative Trial in Operable Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:2474-81.
11. Martin M, Romero A, Cheang MCU et al. "Genomic predictors of response to doxorubicin versus docetaxel in primary breast cancer" *Breast Cancer Res Treat.* 128: 127.136, 2011.
12. Romero A, Martin M, Cheang M et al. "Assessment of topoisomerase II α status in breast cancer by quantitative PCR, gene expression microarrays, immunohistochemistry and in situ fluorescence hybridization. *American J Pathol* 4: 178: 1453-1460, 2011.
13. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000;406:747-52.
14. Hugh J, Hanson J, Cheang MCU, et al: Breast Cancer Subtypes and Response to Docetaxel in Node-Positive Breast Cancer: Use of an Immunohistochemical Definition in the BCIRG 001 Trial. *J Clin Oncol* 27:1168-1176, 2009.
15. Parker JS, Mullins M, Cheang MC, et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *J Clin Oncol* 2009;27:1160-7.
16. Prat A, Parker JS, Karginova O, Fan C, Livasy C, Herschkowitz JI, et al. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2010; 12:68-72.
17. Symmans WF, Peintinger F, Hatzis C, Rajan R, Kuerer H, Valero V. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 2007;25:4414-22.