



“Topoisomerasa II- α , como Factor Predictor de Respuesta a la Terapia con Antraciclinas en Cáncer de Mama Localmente Avanzado”

Autores: Henry L. Gómez⁽¹⁾, Joseph A. Pinto⁽¹⁾, Mivael Olivera⁽¹⁾, Tatiana Vidaurre⁽¹⁾, Franco D. Doimi⁽²⁾, Carlos E. Vigil⁽³⁾, Raúl G. Velarde⁽³⁾, Julio E. Abugattas⁽³⁾, Edith Alarcón⁽⁴⁾, Carlos S. Vallejos⁽¹⁾.

RESUMEN

Introducción.- La enzima Topoisomerasa II- α es un blanco molecular de las antraciclinas; diversos estudios han sugerido que la expresión de esta enzima es un predictor de respuesta a la terapia con antraciclinas. El objetivo de este trabajo fue determinar si la sobre expresión de la Topoisomerasa II- α predice respuesta al tratamiento con antraciclinas en pacientes con cáncer de mama localmente avanzado.

Material y Métodos.- En este estudio se evaluó la expresión de la Topoisomerasa II- α , Her2, Receptor de Estrógeno y Receptor de Progesterona mediante inmunohistoquímica en tejidos de mama fijados en formol e incluidos en parafina de 111 tumores de pacientes con cáncer de mama localmente avanzado entre 1995 al 2002. El valor pronóstico de estos marcadores fue analizado.

(1) Departamento de Medicina Oncológica, Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas

(2) Departamento de Patología, Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas

(3) Departamento de Cirugía en Mama y Tejidos Blandos, Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas

(4) Departamento de Estadística, Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas

• Este trabajo fue financiado en parte por un Grant de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Resultados.- 40 (36%) casos mostraron sobre expresión de la Topoisomerasa II- α ; el 62 (56%) para el Receptor de Estrógeno; para el Receptor de Progesterona 39 (35%) y 26 (23%) de expresión de Her2. No se observó diferencias significativas entre la expresión de Topoisomerasa II- α con respuesta a la terapia, con la sobrevida libre de progresión y sobrevida global. Cuando se comparó la sobrevida libre de enfermedad y sobrevida global con la densidad de dosis en casos que sobre expresaron la Topoisomerasa II- α , se observaron diferencias significativas (0.010 y 0.027).

Conclusiones.- Aunque no se observó diferencias significativas en términos de sobrevida global, sobrevida libre de enfermedad o respuesta a la terapia; se describe que aquellos pacientes que sobre expresan la Topoisomerasa II- α presentan un mayor beneficio clínico cuando reciben una alta densidad de dosis de antracilinas.

ABSTRACT

Background.- Topoisomerase II- α is a molecular target for anthracyclines; several studies have suggested that expression of Topoisomerase II- α predicts is a predictor of response to treatment with anthracyclines. The aim of this study was to evaluate if the overexpression of Topoisomerase II- α predict response to treatment with anthracyclines in locally advanced breast cancer.

Material and Methods.- This study evaluated the expression of Topoisomerase II- α , Her2, Estrogen Receptor and Progesterone Receptor by immunohistochemistry in formalin-fixed and paraffin embedded breast tumors in 111 tumors from patients with locally advanced breast cancer between the years 1995-2002. The prognostic value of these markers was analyzed.

Results.- 40 (36%) samples showed overexpression of Topoisomerase II- α 62 (56%) of Estrogen Receptor, 39 (35%) of Progesterone Receptor and 26 (23%) of Her2. There was no significant difference between the Topoisomerase II- α expression and response to therapy, overall survival and progression free survival. When the overall survival and the disease free survival was compared with the dose intensity in cases overexpressing Topoisomerase II- α , significant difference were observed (P=0.010 y 0.027).

Conclusions.- Although there was no significant differences observed in terms of overall survival, progression free survival or response to therapy, we describe that patients overexpressing Topoisomerase II- α , present a better clinical benefit when they are treated with a higher dose intensity of anthracyclines

I.- INTRODUCCIÓN

Diversos estudios han demostrado la superioridad de los regímenes de quimioterapia neoadyuvante basadas en antraciclínicos sobre otros regímenes de tratamiento (1), así mismo esta ampliamente demostrado los beneficios de los regímenes que contienen antraciclínicos en adyuvancia en el cáncer de mama avanzado y metastásico (2). A pesar de los beneficios del uso de antraciclínicos, existe la desventaja de las toxicidades producidas por este tipo de tratamiento en los que se incluyen cardiotoxicidad, este es el motivo por el cual se deben buscar marcadores cuya expresión o ausencia puedan predecir respuesta a los antraciclínicos para evitar toxicidades innecesarias en pacientes quienes no van a responder a este tipo de terapia.

En la actualidad, se están formando consensos para determinar valores predictivos de determinados factores biológicos en cáncer de mama, entre los cuales se incluyen índice de marcaje de 3H-timidina, Timidina Kinasa, Ki-67, p21, p53, Her2, estatus de receptores hormonales y la Topoisomerasa II- α . (3)

Datos clínicos de diversos estudios señalaban que aquellos tumores con sobre expresión de HER2 podrían tener un beneficio incrementado a la terapia con antraciclínicos (4,5,6); sin embargo no hay estudios preclínicos que han logrado demostrar como la biología del receptor HER2 está vinculada a esta relación (7).

Al no encontrarse racional biológica que relacione sensibilidad a las antraciclínicos con HER2, la atención se centró en el gen TOP2A, ubicado cerca del gen HER2. Posteriormente se determinó que la actividad de la Topoisomerasa II- α se encuentra incrementada cuando el receptor Her2 es activado, mostrando un incremento a la sensibilidad de la doxorubicina; en cambio cuando el receptor Her2 es bloqueado, se incrementaba la resistencia mediada por la disminución de la actividad de la Topoisomerasa II- α (8); esta es una racional biológica para la determinación del estatus de la Topoisomerasa II- α como factor predictivo de respuesta a las terapias basadas

en antraciclínicos en el cáncer de mama que sobre expresa HER2.

Se ha reportado que los tumores de mama con amplificación del gen TOP2A responden mejor a la terapia que contiene antraciclínicos (epirubicina/doxorubicina), en comparación al régimen CMF en pacientes con compromiso ganglionar (9).

Faneyte et al. (2003), realizaron un estudio para determinar marcadores que puedan predecir la respuesta a la quimioterapia neoadyuvante, los marcadores evaluados fueron receptor de estrógeno, Bcl-2, Her2, Ki-67; para este estudio los pacientes recibieron 3 cursos de Ciclofosfámid (500 mg/m²), epirubicina (120 mg/m²) y 5-fluorouracilo (500 mg/m²) cada tres semanas; los resultados revelaron que la ausencia de expresión del receptor de estrógeno es un marcador de sensibilidad a la quimioterapia, donde ER negativo y alto índice proliferativo, se asocian a una mejor respuesta (10). En relación al tratamiento neoadyuvante con antraciclínicos, se han identificado que mutaciones de TP53 sugieren resistencia a la terapia con doxorubicina (11). En contraste a los estudios descritos previamente, existen estudios que sugieren que la expresión de Topoisomerasa II- α y HER2 no son factores predictivos de respuesta (12).

Se postuló que la sobre expresión del gen TOP2A estaba asociada con la amplificación de HER2 (debido a la cercanía de los dos loci), pero no viceversa (13), esto posteriormente fue corroborado (14); sin embargo, otros investigadores reportaron que el nivel de amplificación de HER2 no predecía la amplificación del gen TOP2A (15). En base a estos datos se ha propuesto que la amplificación del gen TOP2A podría ser un factor predictivo de respuesta a la terapia con epirubicina en un esquema adyuvante; en contraste (16), mientras que otros autores sugieren que la expresión de las proteínas Her2 y Topoisomerasa II- α , no son factores predictivos de respuesta a las antraciclínicos (17).

En contraste con los estudios que negaban una asociación entre la expresión de la Topoisomerasa II- α y la respuesta al tratamiento, Arpino et al. (2005), determinaron que predecía res-

puesta al tratamiento con epirubicina en un estudio realizado con 33 pacientes (18); así mismo Martin-Richards et al (2005) determinaron una relación significativamente asociada con la respuesta clínica ($p=0.03$) (19); resultados similares fueron descritos por Li et al.(2008) (20). La utilidad del gen TOP2A como factor predictivo de respuesta a antraciclinas en neoadyuvancia ha sido descrito por Orlando et al. (2008) (21).

Buscando además otros marcadores que pudieran predecir respuesta a la terapia con antraciclinas, Minisini et al. (2005), describieron que la sobre expresión de Topoisomerasa II- α y una baja expresión de APE/ref-1 se asocia a una mejor respuesta patológica (22).

La búsqueda de marcadores que predigan la respuesta a la terapia es la piedra angular en la elaboración de nuevos esquemas de tratamiento y en el diseño de nuevas drogas; diversas investigaciones realizaron aportes para identificar a la Topoisomerasa II- α como factor predictivo de respuesta a las antraciclinas.

El objetivo de este trabajo fue evaluar si la sobre expresión de la Topoisomerasa II- α predice respuesta completa al tratamiento con antraciclinas en pacientes con cáncer de mama localmente avanzado.

II.- MATERIAL Y MÉTODOS

2.1.- Diseño del Estudio

Estudio descriptivo, retrospectivo y con corte longitudinal. Se incluyeron 111 pacientes con cáncer de mama localmente avanzado tratados en neoadyuvancia con antraciclinas, diagnosticados y tratados en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, Lima – Perú, durante los años 1995 –2002.

2.2.- Criterios de Elegibilidad

Para ser incluidos en el estudio, los pacientes tuvieron que reunir los siguientes criterios de elegibilidad:

2.2.1.- Criterios de Inclusión

Pacientes de sexo femenino, con cáncer de

mama localmente avanzado que hayan sido tratados en neoadyuvancia con antraciclinas y cuyo tratamiento haya sido completado o haya progresado durante el tratamiento.

2.2.2.- Criterios de exclusión

Pacientes que hayan abandonado el tratamiento o con material biológico ausente.

2.3.- Inmunohistoquímica

Se realizaron estudios de inmunohistoquímica para evaluar la expresión del receptor de Estrógeno, Receptor de Progesterona, HER2, Ki-67 y la proteína nuclear Topoisomerasa II- α , se usaron los siguientes anticuerpos primarios:

Receptor de Estrógeno, anticuerpo anti – Receptor de Estrógeno clona ID5 (Dako, Carpintería); Receptor de Progesterona, anti – Receptor de Progesterona clona PGRG36 (Dako, Carpintería), Ki67, anticuerpo monoclonal anti – Ki67 (Calbiochem, CA); HER2, anticuerpo Anti – HER2, clona Ab-2 (Calbiochem, CA); Topoisomerasa II- α , anticuerpo monoclonal Anti – Topoisomerasa II- α , Clona Ab-2 (Calbiochem, CA).

2.4.- Procesamiento de las muestras

Se trabajaron con tumores de mama fijados en formol e incluidos en parafina, se realizaron cortes de 3 micrómetros de espesor, se deparafinaron las muestras por calor y baños de xilol, se rehidrataron las muestras, se procedió a la recuperación antigénica, para Topoisomerasa II- α se realizó la recuperación antigénica con buffer tris (pH 9.5) a 100°C durante 20 minutos, para Ki67 y HER2 se realizó digestión enzimática con tripsina a 37°C durante 20 minutos, para receptor de estrógeno y progesterona se realizó la recuperación antigénica en buffer citrato (pH 7.5) en microondas durante 15 minutos, la inmunohistoquímica se realizó bajo las condiciones descritas por el fabricante de los anticuerpos.

2.5.- Interpretación de los resultados y scores

Se consideró como expresión de la Topoisomerasa II- α cuando se observó células tumorales con tinción nuclear (Figura 01). Las muestras fueron clasificadas como negativas cuando se observó una expresión menor al 10%; y se con-

sideró una muestra positiva cuando la tinción fue igual o mayor al 10% de las células tumorales (23). Se consideró la expresión de Her2 de acuerdo a lo siguiente: 0;1+=mayor a 10% de células débilmente positivas; 2+ tinción homogénea moderada; 3+ tinción homogénea fuerte. Se consideró una muestra positiva aquella que presentó una expresión mayor a 2+ (24).

2.6.- Parámetros de eficacia

2.5.1- Respuesta a la Terapia

Evaluada de acuerdo a los criterios RECIST (23), y descrita como respuesta completa, respuesta parcial y no respuesta. Para evaluar el beneficio clínico consideramos la respuesta objetiva como la suma de casos de respuesta completa y respuesta parcial.

2.7.- Correlación de la expresión de Topoisomerasa II- α con la intensidad de dosis

Para evaluar el impacto de la intensidad de dosis, se seleccionaron únicamente aquellos pacientes que sobre expresaban Topoisomerasa II- α , y se estratificaron de acuerdo a la intensidad de dosis de adriamicina recibida. Los pacientes se agruparon en aquellos que recibieron ≤ 24 mg/m²/semana y aquellos que recibieron una intensidad de dosis > 24 mg/m²/semana.

2.8.- Análisis estadístico

Se utilizó la prueba de chi-cuadrado para correlacionar las variables categóricas, la diferencia entre los grupos fue considerada estadísticamente significativa si el valor p fue menor a 0.05 en un test de dos colas. La supervivencia global y supervivencia libre de progresión y supervivencia libre de enfermedad fue determinada mediante la prueba

de Kaplan-Meier, con un nivel de significancia del 0.05. Como prueba de inferencia estadística se usaron el test de Logrank o Breslow cuando fue apropiado.

III.- RESULTADOS

Se incluyeron 111 pacientes. La mediana de edad fue de 48 años con un rango que varió de 22 a 78 años. El 39% (43) de los pacientes fue mayor de 50 años. Los estadios T4 y N1 fueron mas frecuentes. Las principales características clínicas son resumidas en la tabla 01.

Tabla 01: Características de los pacientes

	No	%
Evaluables	111	
Edad:		
Mediana / rango	48 / (22 - 78)	
< 50 a	43	39%
Estadio T		
T2	2	2%
T3	8	7%
T4	100	90%
ND	1	1%
Estadio N		
N0	12	11%
N1	69	62%
N2	21	19%
N3	9	8%

Tabla 01.- Características de los pacientes incluidos en el estudio

Las pruebas de inmunohistoquímica, determinaron que el 56% de los tumores expresó el receptor de estrógeno, el 35% el receptor de progesterona y el 23% expresó el Her2 (Tabla 02). Con respecto a la expresión de la Topoisomerasa II- α , el 36% de las muestras presentó expresión de este marcador, y tomando en cuenta la intensidad de la expresión nuclear por inmunohistoquímica, el 34% presentó una fuerte expresión (Tabla 02).

El 62% de los pacientes incluidos recibió el esquema FAC a altas dosis, seguido por el 31% de pacientes que recibió el esquema FAC convencional. El 66% de los pacientes recibieron 6 cursos de tratamiento. El rango de cursos de tratamiento varió desde 3 hasta 7 cursos. Algunos pacientes sólo recibieron 3 cursos de tratamiento debido a que no presentaron una respuesta favorable y el médico tratante decidió cambiar de esquema de tratamiento (tabla 03).

Tabla 02: Marcadores		
	No	%
Total	111	
Receptor de Estrógeno		
Positivo	62	56%
Negativo	47	42%
No determinado	2	2%
Receptor de Progesterona		
Positivo	39	35%
Negativo	68	61%
No determinado	4	4%
Her2		
Positivo	26	23%
Negativo	81	73%
No determinado	4	4%
Topoisomerasa II-α		
Positivo	40	36%
Negativo	71	64%

Tabla 02: Expresión por inmunohistoquímica del receptor de estrógeno, receptor de progesterona y Her2 y la Topoisomerasa II- α .

Tabla 03: Características de los tratamientos recibidos por los pacientes

Tabla 03: Tratamiento y cursos		
	No	%
Total	111	
Quimioterapia		
FAC altas dosis	69	62%
FAC	34	31%
ADRIA	5	5%
CMF	1	1%
ND	2	2%
Cursos		
3	2	2%
4	20	18%
5	11	10%
6	73	66%
7	3	3%

Con relación a la respuesta clínica, el 12% de los pacientes alcanzó una respuesta completa, el 60% respuesta parcial y el 28% no presentó respuesta (**Tabla 04**).

Tabla 04: Respuesta clínica

	No	%
Total	111	
Respuesta		
Respuesta completa	13	12%
Respuesta parcial	67	60%
No respuesta	31	28%

Tabla 04:
Respuesta
clínica según
criterio
RECIST.

Para correlacionar la expresión de la Topoisomerasa II- α con la respuesta clínica a la terapia, se tomó por conveniente agrupar la respuesta completa con la respuesta parcial en respuesta objetiva, con la finalidad de agrupar a los pacientes quienes obtuvieron algún beneficio del tratamiento. Tal como está descrito en la tabla 06, se observó que el 63% de pacientes que expresa-

ron la proteína Topoisomerasa II- α tuvo respuesta objetiva al tratamiento y el 77% de pacientes que fueron negativos para Topoisomerasa II- α , alcanzó respuesta objetiva. Con respecto a Her2, se observó un mayor porcentaje de pacientes con respuesta objetiva (75%) en el grupo que fue negativo para este marcador (**Tabla 05**).

Tabla 05: Topoisomerasa II- α y respuesta clínica

	Pacientes	RPTA	
		RO*	%
Total	111		
Topoisomerasa II-α			
Positivo	40	25	63%
Negativo	71	55	77%
Her2**			
Positivo	26	18	69%
Negativo	81	61	75%

*, RO: Respuesta completa y parcial

** : No determinado en cuatro ptes.

Tabla 05:
Correlación entre
la expresión por
inmunohisto-
química de la
Topoisomerasa
II- α y Her2 con la
respuesta clínica.

En términos de sobrevida global y sobrevida libre de progresión, no existió diferencia significativa entre los pacientes que expresaron o no la Topoisomerasa II- α . Si se pudo observar diferen-

cias significativas cuando se evaluaron Her2, el receptor de estrógeno y el receptor de progesterona (**Tabla 06, Gráfico 01, Gráfico 02, Gráfico 03**).

Tabla 06: SLP y sobrevida global

	SLP Mediana	5a	SG Mediana	5a
Seguimiento	51 / (8 - 112)		51 / (7 - 112)	
Topoisomerasa II-α				
Positivo	29.6	44%	47.9	46%
Negativo	72.0	51%	no alcanza	67%
		0.377		0.106
Her2				
Positivo	19.4	35%	32.5	43%
Negativo	72.1	53%	no alcanza	64%
		0.012		0.010
Receptor de estrógeno				
Positivo	81.8	56%	no alcanza	70%
Negativo	27.2	38%	33.4	46%
		0.060		0.007
Receptor de progesterona				
Positivo	119.8	68%	no alcanza	
74%				
Negativo	27.2	35%	74	51%
		0.016		0.012

Gráfico 01

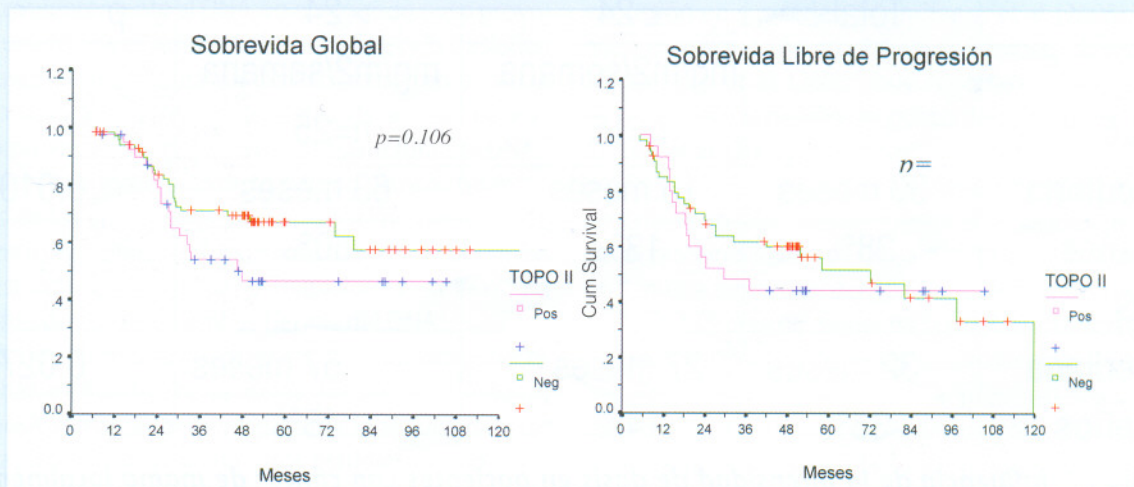


Gráfico 01: Influencia de la expresión de la Topoisomerasa II- α en la Sobrevida Global y Sobrevida libre de progresión en pacientes tratados en neoadyuvancia con antraciclinas.

Gráfico 02
a) Her2

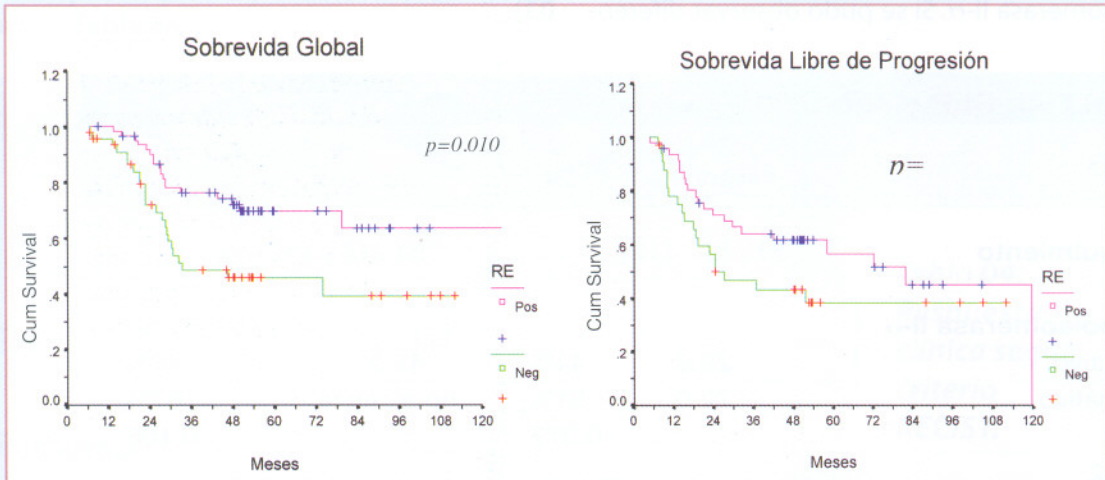


Gráfico 02: Sobrevida Global y Sobrevida libre de progresión en pacientes tratados con antraciclínicos en adyuvancia, según la expresión de Her2

Cuando se seleccionaron sólo aquellos casos que sobre expresaron la proteína Topoisomerasa II- α , se observó diferencias significativas en términos de sobrevida global ($p=0.027$) y sobrevida libre de enfermedad ($p=0.010$) a 5 años, cuando se estratificaron a los pacientes de acuerdo a la intensidad de dosis recibida (Tabla 07, Gráfico 03).

Tabla 07

	Total	≤ 24 mg/m ² /semana n=15	> 24 mg/m ² /semana n=25	p
SLE				
Mediana	30 meses	16 meses	63 meses	0.010
5 años	38%	13%	50%	
SG				
Mediana	32 meses	27 meses	57 meses	0.027
5 años	35%	14%	45%	

Tabla 07: Influencia de la intensidad de dosis en pacientes con cáncer de mama localmente avanzado, tratados con antraciclínicos en neoadyuvancia y que sobre expresan Topoisomerasa II- α . SLE, sobrevida libre de enfermedad; SG, sobrevida global.

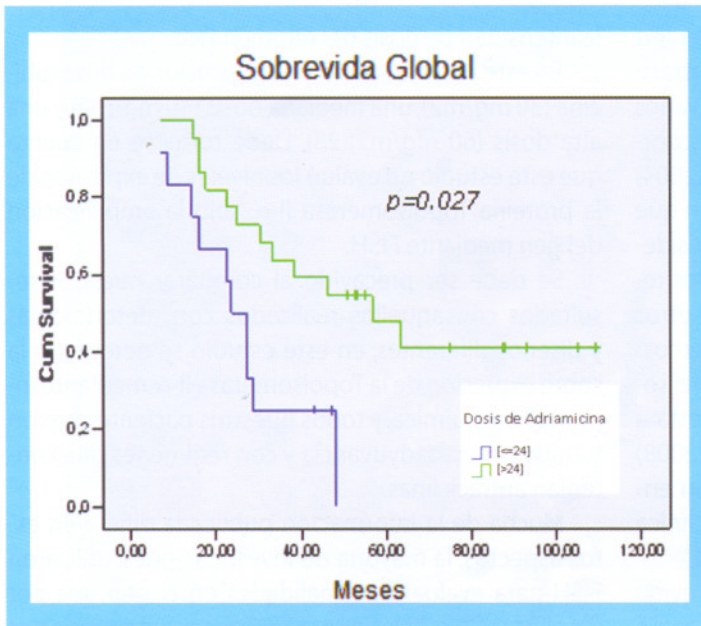


Gráfico 03:
Impacto de la intensidad de dosis de adriamicina en neoadyuvancia en la supervivencia global de pacientes con cáncer de mama localmente avanzado, con sobreexpresión de Topoisomerasa II- α .

IV.- DISCUSIÓN

La Topoisomerasa II- α es una enzima perteneciente a la familia de las isomerasas, cuya función es la de modificar la topología del DNA cortando ambas hebras y comportándose además como una ligasa en una reacción que requiere consumo de ATP, este es un proceso fundamental sin el cual no podría efectuarse la replicación del DNA.

Para poder entender la relación entre la respuesta a regímenes de terapia basados en antraciclínicos y la expresión de la Topoisomerasa II- α , debemos comprender la función de las topoisomerasas de tipo II; que funcionan en tres pasos, en el primer paso se liga no covalentemente al DNA, en el segundo paso provocan una rotura en ambas hebras del DNA y la trasladan a través de otra hebra de DNA intacta, y en el tercer paso sella los extremos cortados de ambas hebras, esto provoca una relajación en la estructura del DNA.

Las Topoisomerasas de tipo II son blancos terapéuticos de las antraciclínicas. Las antraciclínicas se unen de forma irreversible a la Topoisomerasa II- α y estabilizan su estructura, luego que la Topoisomerasa II- α ha producido cortes en ambas hebras del DNA.

En los últimos años, diversos estudios retrospectivos han evaluado aberraciones del gen TOP2A como un posible marcador de respuesta a la actividad de las antraciclínicas, la mayoría de estos estudios fueron estudios clínicos de fase III que evaluaron en adyuvancia el rol de las antraciclínicas en pacientes con cáncer de mama temprano (9,16, 25).

Además de las aberraciones del gen TOP2A, se ha evaluado independientemente el valor predictivo de los niveles de la proteína Topoisomerasa II mediante inmunohistoquímica; en estudios retrospectivos donde los pacientes recibieron un régimen conteniendo antraciclínicas u otro régimen citotóxico, en cáncer de mama temprano o avanzado. Los resultados sugieren que solo los pacientes que presentan tumores con sobreexpresión de la Topoisomerasa II- α se benefician sustancialmente con las antraciclínicas.

En el presente estudio encontramos una expresión de la topoisomerasa II- α en el 36% de los casos, un porcentaje semejante (39%) fue descrito por Martin-Richard et al., (2004), en la población española (19). Otros investigadores reportan un porcentaje mayor de expresión en sus series, Schindlbeck et al. (2005) describe una expresión en el 46% de tumores de mama; MacGrogan et al. (2003), que reportan un 45.6% en su serie (pero teniendo un punto de corte del 15%) y Arpino et al. (2005) que reporta un nivel de expresión del 63% (18). Existen otros reportes en la literatura que describen una frecuencia menor de sobreexpresión de la proteína Topoisomerasa II- α ; Li et al. (2009), reportan una expresión del 10.5% por inmunohistoquímica, en tumores de mama en la población china (20).

En nuestro trabajo, de los pacientes que expresaban Topoisomerasa II- α , el 63% presentó respuesta objetiva, en cambio, el 77% de los pacientes cuyos tumores no expresaban la Topoisomerasa II- α alcanzó una respuesta objetiva. Estos resultados describen que la expresión de la Topoisomerasa II- α se comporta como un factor de agresividad en neoadyuvancia.

El valor de la expresión de la Topoisomerasa II- α como un factor predictivo de respuesta a los antraciclínicos está siendo actualmente evaluado por varios investigadores, los resultados son controversiales, porque aunque existen autores como Petit et al. (2004) cuyos resultados de investigaciones concluyeron que la expresión de la topoisomerasa II no puede considerarse como un factor predictivo de respuesta a los regímenes basados en antraciclínicos (12), aunque otros autores como Martin-Richard et al., (2004) han demostrado significativamente una asociación entre la sobre expresión de la Topoisomerasa II y la respuesta a esta terapia en adyuvancia (19) y Orlando et al. (2008) quien sugirió en neoadyuvancia, una correlación entre la amplificación de TOP2A con la respuesta clínica y patológica (21).

Cuando evaluamos la sobrevida global y sobrevida libre de progresión a 5 años en nuestros pacientes, no observamos diferencias significativas en los grupos que expresan o no la Topoisomerasa II- α . (Tabla 07, Grafico 01, Grafico 02), no obstante se pudo observar que el Her2, el receptor de estrógeno y el receptor de progesterona, si son factores que influyen significativamente, tal como ha sido descrito extensamente en la literatura.

Un trabajo publicado por O'Malley y col., (2009) en 438 pacientes, describió que alteraciones en el gen TOP2A se asociaban con un incremento en la respuesta a las antraciclínicas en comparación a aquellos pacientes quienes recibieron otros regímenes; la metodología usada por O'Malley difiere a la nuestra, debido a que utilizaron FISH para evaluar amplificaciones o deleciones del gen TOP2A (24).

Un resultado similar fue reportado por Van Nielsen et al., (2008) evaluando una serie de 980 pacientes quien sugirió que las amplificaciones del gen TOP2A favorecían la terapia con epirubicina en adyuvancia (27).

Con la finalidad de determinar si la intensidad de dosis influía en términos de sobrevida global y sobrevida libre de enfermedad, se seleccionaron solo aquellos pacientes que expresaban la topoisomerasa II, encontrándose que aquellos pacientes que recibieron una intensidad de dosis mayor a 24 mg/m²/ semana presentaron una mediana de sobrevida libre de enfermedad y sobrevida global mas larga (16 vs 63 meses y 27 vs 57 meses respectivamente) (Tabla 07, Gráfico 03). Con respecto a la intensidad de dosis, un estudio publicado por Harris et al. (2009), en pacientes del estudio clínico CALGB 8541/150013, indicó que la amplificación del gen TOP2A, no predice beneficio clínico a

la intensidad de dosis del régimen FAC.

En este estudio se usó una baja dosis de doxorubicina (30 mg/m²), una mediana dosis (40 mg/m²) y una alta dosis (60 mg/m²)(28). Debe tomarse en cuenta que este estudio no evaluó los niveles de expresión de la proteína Topoisomerasa II- α , solo la amplificación del gen mediante FISH.

Se debe ser precavido al comparar nuestros resultados con aquellos realizados con metodologías y diseños diferentes; en este estudio se determinó la sobre expresión de la Topoisomerasa II- α mediante inmunohistoquímica, y todos nuestros pacientes fueron tratados en neoadyuvancia y con regímenes que contenían antraciclínicos.

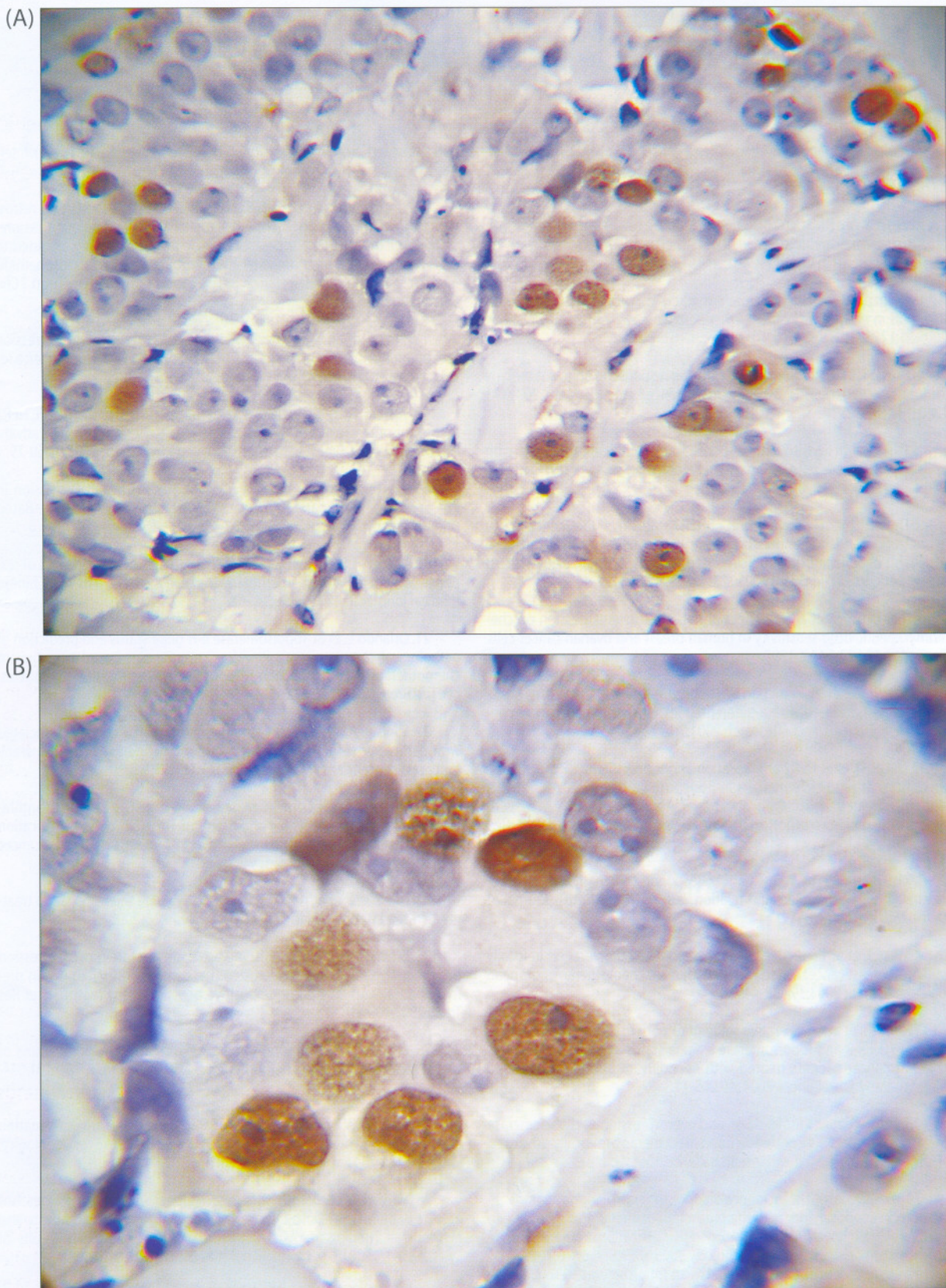
Mucha de la información publicada difiere en estos aspectos; la mayoría de investigaciones, utilizaron FISH para evaluar anomalías en el gen, sea por amplificación o deleción; así mismo muchos reportes describen trabajos realizados en adyuvancia, y se debe tomar en cuenta de que a diferencia de la expresión de HER2, se ha descrito que la expresión de Topoisomerasa II- α cambia luego de la terapia neoadyuvante, y que este cambio puede tener un significado clínico diferente. (Tinari et al., 2006)

Una de las debilidades de este trabajo es que no se utilizó un grupo control que haya recibido regímenes sin antraciclínicos, para poder determinar si el comportamiento clínico observado presentaba una relación Topoisomerasa II- α antraclínicos, sin embargo en la práctica oncológica moderna esto no es posible, debido a que actualmente no existen regímenes en neoadyuvancia que no contengan antraciclínicos.

V.- CONCLUSIONES

En el grupo de pacientes con cáncer de mama localmente avanzado y tratados con antraciclínicos en neoadyuvancia, se observa que la expresión de la Topoisomerasa II es un factor de agresividad en términos de respuesta al tratamiento. No se logró observar diferencias significativas entre términos de sobrevida global y la sobrevida libre de enfermedad entre pacientes con expresión o no de Topoisomerasa II. Aquellos pacientes que presentan sobre expresión de Topoisomerasa II- α presentan un mayor beneficio clínico significativamente estadístico cuando son tratados con antraciclínicos a una densidad de dosis superior a 24 mg/m²/semanal.

Figura 01



Expresión de la enzima Topoisomerasa II- α en tumores de mama detectada por inmunohistoquímica, en ambas figuras (A, 400X; B, 1000X) puede observarse el patrón de expresión nuclear.

VI.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Polychemotherapy for early breast cancer: an overview of the randomised trials. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. *Lancet*. 1998 Sep 19;352:930-42.
2. Fossati R, et al. Cytotoxic and hormonal treatment for metastatic breast cancer: a systematic review of published randomized trials involving 31,510 women. *J Clin Oncol* 1998;16:3439-3460.
3. Colozza M, et al. Proliferative markers as prognostic and predictive tools in early breast cancer: where are we now? *Annals of Oncology* 2005;16:1723-1739.
4. Muss H, et al. c-erbB-2 expression and response to adjuvant therapy in women with node-positive early breast cancer. *N Engl J Med* 1994;330:1260 - 1266.
5. Paik S, et al. c-erbB-2 and response to doxorubicin in patients with axillary lymph node-positive, hormone receptor-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:1361 - 1370.
6. Dressler L, et al. Comparison of HER2 status by fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry to predict benefit from dose escalation of adjuvant doxorubicin-based therapy in nodepositive breast cancer patients. *J Clin Oncol* 2005 ; 23:4287 - 4297.
7. Pegram MD, et al: The effect of her-2/neu overexpression on chemotherapeutic drug sensitivity in human breast and ovarian cancer cells. *Oncogene* 15:537-547 2, 1997.
8. Harris LN, et al. Induction of topoisomerase II activity after ErbB2 activation is associated with a differential response to breast cancer chemotherapy. *Clinical Cancer Research* 2001;7:1497-1504.
9. Di Leo A, et al. HER2 amplification and topoisomerase II alpha gene aberrations as predictive markers in nodepositive breast cancer patients randomly treated either with an anthracycline-based therapy or with cyclophosphamide, methotrexate, and 5-fluorouracil. *Clin Cancer Res*. 2002;8:1107-1116.
10. Faneyte IF, et al. Breast Cancer Responde to neoadjuvant chemotherapy: predictive markers and relation with outcome. *British Journal of Cancer* 2003;88:406-412.
11. Aas T, et al. Predictive value of tumour cell proliferation in locally advanced breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *European journal of Cancer* 2003;39:438-446.
12. Petit T, et al. Comparative value of tumour grade, hormonal receptors, Ki-67, HER-2 and topoisomerase II alpha status as predictive markers in breast cancer patients treated with neoadjuvant anthracycline-based chemotherapy. *Eur J Cancer*. 2004 ;40:205-11.
13. Coon JS, et al. Amplification and overexpression of topoisomerase II- α predict response to anthracycline-based therapy in locally advanced breast cancer. *Clinical Cancer Research* 2002;8:1061-1067.
14. Hicks DG, et al. The incidence of topoisomerase II-alpha genomic alterations in adenocarcinoma of the breast and tjeir relationship to human epidermal growth factor receptor - 2 gene amplification: a fluorescence in situ hybridization study. *Human Pathology* 2005;36:348-356.
15. Durbecq V, et al. Correlation between topoisomerase II- α gene amplification and protein expression in HER-2 amplified breast cancer. *International Journal of Oncology* 2004;25:1473-1479.
16. Knoop AS, et al. Danish Breast Cancer Cooperative Group. retrospective analysis of topoisomerase IIa amplifications and deletions as predictive markers in primary breast cancer patients randomly assigned to cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil or cyclophosphamide, epirubicin, and fluorouracil: Danish Breast Cancer Cooperative Group. *J Clin Oncol*. 2005;23:7483-90.
17. Fritz P, et al. c-erbB2 and topoisomerase II- α protein expression independently predict poor survival in primary human breast cancer: a retrospective study. *Breast Cancer Research* 2005;374-384.
18. Arpino G, et al. Predictive value of apoptosis, proliferation, HER2 and topoisomerase II- α for anthracycline chemotherapy in locally advanced breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* 2005;92:69-75.
19. Martin - Richard M, et al. Serial Topoisomerase II Expression in Primary Breast Cancer and Response to Neoadjuvant Anthracycline-Based Chemotherapy. *Oncology* 2004;66:388-394.
20. Li Z; et al. HER2 and topoisomerase II- α : possible predictors of response to neoadjuvant chemotherapy for breast cancer patients. *Chinese medical journal*. 2008,121:1965-1968.
21. Orlando L, et al. Topoisomerase II- α gene status and prediction of pathological complete remission after anthracycline-based neoadjuvant chemotherapy in endocrine non-responsive Her2/neu-positive breast cancer. *The Breast* 2008;17,5:506-511.
22. Minisini AM, et al. Topoisomerase II- α and APE/ref-1 are associated with pathologic response to primary anthracycline-based chemotherapy for breast cancer. *Cancer Letters* 2005;224:113-139.
23. Cardoso F, et al. Correlation Between complete response to anthracycline - based chemotherapy and topoisomerase II- α gene amplification and protein overexpression yn locally advanced/metastatic breast cancer. *International Journal of Oncology* 2004;201-209.
24. Therasse P, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. *J Natl Cancer Inst* 92:205-216, 2000.
25. O'Malley FP, et al. Topoisomerase II alpha protein overexpression has predictive utility in a randomized trial comparing CMF to CEF in premenopausal women with node positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2006;100:518.
26. O'Malley FP, et al. Topoisomerase II alpha and responsiveness of breast cancer to adjuvant chemotherapy. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101:644-50.
27. Nielsen KV, et al. The value of TOP2A gene copy number variation as a biomarker in breast cancer: Update of DBCG trial 89D. *Acta Oncologica*, 2008; 47: 725-734.
28. Harris LN, et al. Topoisomerase II{alpha} Amplification Does Not Predict Benefit From Dose-Intense Cyclophosphamide, Doxorubicin, and Fluorouracil Therapy in HER2-Amplified Early Breast Cancer: Results of CALGB 8541/150013. *J Clin Oncol* doi: 10.1200/JCO.2008.18.4085