

Biomarcadores circulantes para el diagnóstico y pronóstico del cáncer de mama: una revisión literaria

María M. Gálvez¹, Lidia Gago², Cristina Mesas^{2,3}, Consolación Melguizo^{2,3}, Jose Prados^{2,3}

1 Hospital Universitario Torrecardenas, 04009 Almería, España

2 Instituto de Biopatología y Medicina Regenerativa (IBIMER), Centro de Investigaciones Biomédicas (CIBM) 18100 Granada, España

3 Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA, 18012 Granada, España

*Autor de Correspondencia: C. Melguizo. Instituto de Biopatología y Medicina Regenerativa (IBIMER), Centro de Investigaciones Biomédicas (CIBM) 18100 Granada, España

RESUMEN

El cáncer de mama (CM) es el cáncer diagnosticado con mayor frecuencia y la causa más común de mortalidad relacionada con el cáncer en las mujeres a nivel mundial, constituyendo un importante problema de salud. Las tecnologías para la detección y el diagnóstico precoz del CM no son óptimas. Se necesitan nuevos marcadores para el diagnóstico precoz, el pronóstico y la predicción de la respuesta al tratamiento para mejorar la atención del CM. Los biomarcadores en sangre (BS) pueden ofrecer una estrategia alternativa no invasiva para mejorar la detección del cáncer. Aunque ninguno de los BS utilizados actualmente es lo suficientemente sensible para la detección precoz del CM, en los últimos años han surgido BS como herramientas de detección. Algunos centros miden biomarcadores en pacientes asintomáticas después de una cirugía curativa para el CM primario, si bien su utilidad clínica no está clara. Candidatos prometedores a biomarcadores como proteínas, autoanticuerpos, microARN, metilación de ácidos nucleicos, metabolitos, lípidos y exosomas han mostrado un gran potencial para detectar el CM, incluida la detección en las etapas iniciales. Para aumentar la utilidad clínica de los BS son necesarias investigaciones futuras que los evalúen en estudios de validación clínica a gran escala. El objetivo de esta revisión es describir los hallazgos recientes de BS específicos del CM, potencialmente útiles en la detección temprana, estratificación y el seguimiento de la respuesta al tratamiento en CM.

Palabras clave: Biomarcadores en sangre, cáncer de mama, biomarcadores de ADN, microARN, exosomas, proteínas circulantes, autoanticuerpos, lipidómica, metabolómica.

1. Introducción: cáncer de mama

El cáncer de mama (CM) es el cáncer más comúnmente diagnosticado en el mundo según la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC). Según datos de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM), en España, el CM es el tercero en frecuencia en cuanto a su diagnóstico, por detrás del cáncer de colon y recto y próstata. Este cáncer constituye la primera causa de muerte por cáncer en mujeres españolas. Una de cada ocho mujeres desarrollará un CM a lo largo de la vida (12%) (1). La mayoría se diagnostican entre los 45 y los 65 años. Su detección precoz permite un buen pronóstico, con una supervivencia media en los países desarrollados del 78% a los 5 años (2). En la actualidad se describen diferentes subtipos moleculares de CM que poseen evoluciones clínicas diferentes y precisan de un enfoque terapéutico adecuado (3). Así, el tipo luminal (75-80% de los CM) posee los subtipos luminal A (RE+, RP+, HER2-, Ki67 bajo) con buen pronóstico y mayor supervivencia en caso de recaída y el subtipo luminal B (RE+, RP (+/-), HER2 (+/-), Ki67 alto), un grupo de tumores luminales con mal pronóstico. El primero presenta una alta tasa de respuesta a la hormonoterapia y no responde a la quimioterapia mientras que el segundo se beneficia de la quimioterapia y la hormonoterapia. Por otra parte, el tipo HER2+ (RE-, RP-, HER2+) se asocia a un peor pronóstico que los subtipos luminales A y B y son tributarios de un tratamiento específico con los anticuerpos monoclonales trastuzumab y pertuzumab, así como moléculas como lapatinib y TDM1 conjugado de anticuerpo y fármaco (trastuzumab-emtansina). Tienen una alta tasa de respuesta a esquemas de quimioterapia que incluyan antraciclinas y/o taxanos. Por último, el triple negativo (RE-, RP-, HER2-), constituye un 10-15% de los CM y posee negatividad a los RE y RP y la ausencia de amplificación de HER2. El tipo basal-like es habitualmente considerado como un fenotipo “triple negativo”. La quimioterapia es el único

tratamiento disponible actualmente para estos tumores que presentan sensibilidad a esquemas con antraciclinas y taxanos (3).

2. Biomarcadores tumorales

Los biomarcadores son moléculas presentes en cualquier material biológico (tejido, células, fluido corporal) que se puede utilizar como indicadores medibles de procesos biológicos normales o patológicos. Los biomarcadores tumorales se usan para diferentes propósitos en la clínica como son la evaluación de riesgos, el diagnóstico y el pronóstico (4). A pesar del amplio uso de la mamografía como el “Gold Standard” para la detección del CM, la aparición de falsos positivos y, en consecuencia, el sobrediagnóstico, sigue siendo una preocupación en la oncología mamaria (5). Es necesario pues identificar biomarcadores fiables a partir de una fuente de fácil acceso que puedan generar determinaciones costo-efectivas para el cribado de rutina. En este contexto, los biomarcadores en sangre (BS) son una estrategia alternativa no invasiva para mejorar su detección. Así, microARN (miRNA), metilación de ácidos nucleicos, proteínas, autoanticuerpos, metabolitos y lípidos ha demostrado un gran potencial para la detección de CM, incluida la detección en las etapas tempranas de la enfermedad. No obstante, nuevos estudios deberán abordarse antes de que estos biomarcadores puedan usarse en la práctica clínica (5).

3. Biomarcadores en ADN

3.1. Metilación aberrante de ADN en cáncer de mama

La metilación de ADN, unión covalente de un grupo metilo en determinadas citosinas, ocurre fundamentalmente en los dinucleótidos CpG (“Cytosine-phosphate-Guanine”), dinucleótidos que se concentran en las islas CpG, localizadas en promotores génicos regiones con largas secuencias de ADN repetitivo (i.e. centrómeros, retrotransposones) (3,6). Este mecanismo epigenético induce el silenciamiento génico

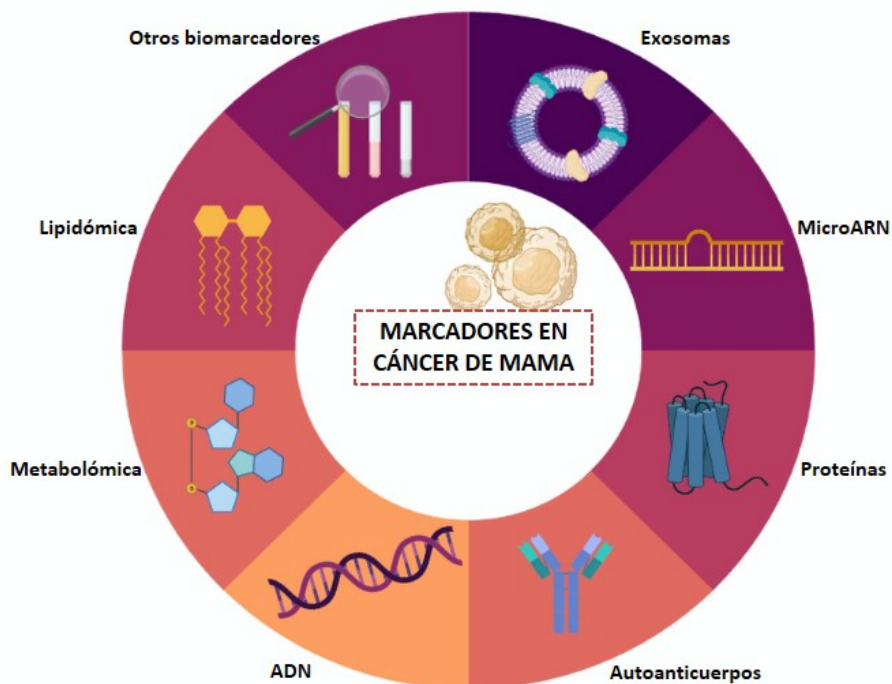


Figura 1. Esquema representativo de los principales biomarcadores que se están investigando para el diagnóstico, pronóstico y respuesta al tratamiento de cáncer de mama.

al inducir una cromatina compactada o impidiendo la unión de factores de transcripción. En CM, se ha demostrado especialmente la presencia de genes hipermetilados, la mayoría implicados en control del ciclo celular, apoptosis, angiogénesis o invasión y metástasis o con actividad como supresores de tumores.

3.2. Biomarcadores de cáncer de mama basados en ADN

Los cambios en la metilación de promotores génicos han evidenciado su potencial como marcadores de CM. Ye y cols. (7) ha puesto de manifiesto la metilación basada en la reacción en cadena de la polimerasa específica (MSP) detectada por diferentes estudios en el promotor del gen 14-3-3 σ está presente de forma significativa en el tejido y la sangre de estos pacientes. De forma parecida, la metilación de los promotores de APC y RARb 2 fueron observados en más del 93% de suero de pacientes CM. Ambos genes discriminaron de forma más precisa que CEA y CA 15-3 en tumores de bajo grado y CM triple negativo y RARb2 parecer ser útil el CM triple negativo

(8). Por otra parte, la metilación del promotor del gen APC en suero podría ser adecuada para confirmar CM (9).

Análisis de metilación de ADN mediante BeadChip han determinado una significativa hipometilación de los genes de proteína de unión a calcio S100 P (S100P) e hyaluronoglucosaminidasa2 (HYAL2) como biomarcadores para la detección temprana (mujeres jóvenes) de CM (10,11). En este sentido, An y cols. (12) sugieren que metilación del promotor de la O6-metilguanina-ADN metiltransferasa (MGMT) puede indicar CM precoz y Lu y cols. (13), que la metilación de RUNX3 podría ser un biomarcador temprano de este tumor. De hecho, su alta expresión se correlaciona con una mayor supervivencia libre de enfermedad, pudiendo ser una potencial diana terapéutica.

En pacientes con CM receptor hormonal positivo, es difícil determinar si el riesgo de recurrencia es alto o bajo. Los parámetros clínicos son usados para la predicción de este riesgo. Utilizando criterios REMARK en un análisis de 74 estudios, 87 marcadores de metilación de ADN fueron relacionados en

cuanto a su valor pronóstico adicional en CM concluyendo que la hipermetilación de los marcadores RASSF1, BRCA, PITX2, CDH1, RARB, PCDH10 y PGR, y el panel de marcadores GSTP1, RASSF1 y RARB poseían correlación estadísticamente significativa con pobre pronóstico (14). También la metilación del promotor de los genes ESR1 y PITX2 se correlacionan con una peor supervivencia y podrían poseer utilidad clínica para el pronóstico de CM (15). Está bien establecido que los estrógenos y otros factores hormonales influyen en la susceptibilidad al CM. La exposición a los estrógenos a lo largo de la vida acumula cambios en la metilación del ADN, detectables en la sangre, que podrían utilizarse en la evaluación del riesgo de CM. En un estudio que definió un modelo de exposición a estrógenos a lo largo de la vida (ELEE) se desarrolló un índice de metilación (MI) basado en 31 localizaciones CpG, concluyendo que se requieren más datos para confirmar la interacción entre la exposición al estrógeno y la metilación del ADN en la sangre (16). La hipometilación de algunos miRNA también ha sido propuesta como biomarcador de CM. Así, la detección de MiR-124 ha sido propuesta como un potencial biomarcador de supervivencia específico en mujeres jóvenes ya que se relaciona con un peor pronóstico en mujeres con CM menores de 35 años de edad (12). En un estudio prospectivo de casos y controles ha revelado que ocho miARN hipometilados de glóbulos blancos periféricos pueden servir como biomarcadores para la detección temprana o la predicción del riesgo de CM (17). Estos miARN estuvieron presentes en las muestras prediagnósticas de individuos que fueron posteriormente diagnosticados con CM durante el seguimiento. El estado de la mutación del ctADN (ADN tumoral circulante) parece predecir la recurrencia de la enfermedad, mientras que los niveles de cfADN pueden ser predictivo de metástasis en los ganglios linfáticos

axilares en pacientes con CM (18, 19, 20). La mutación del gen PIK3CA en cfADN tiene una alta precisión diagnóstica en el CM, especialmente para metástasis (21). Por último, recientes estudios indican que la metilación del gen RASSF1A podría ser usado en combinación otros biomarcadores para mejorar la sensibilidad de detección de CM, aunque se proponen más estudios para poder aplicarlo en la práctica clínica (22).

4. Biomarcadores basados en microARN.

4.1.Desregulación de microARN en cáncer de mama.

Los miARN son pequeñas secuencias (aproximadamente 22 nucleótidos) que regulan negativamente la expresión de los genes a nivel post-transcripcional. La biosíntesis de miARN es un proceso complejo y altamente regulado que incluye su expresión, transporte al citoplasma y procesamiento en varios pasos. Los miARN maduros se unen por complementariedad con ARN mensajeros específicos provocando la inhibición de su traducción a proteína y/o su degradación. Se considera que la mayoría (80%) de ARN mensajeros pueden ser dianas de miARNs (3,23). Los miARN están desregulados en diferentes tipos de cáncer, incluido el CM, y se ha demostrado que la desregulación de varios miARNs puede usarse como marcadores biológicos en el cáncer. La expresión de miARN puede, por ejemplo, discriminar entre tejido mamario normal, benigno y maligno, y entre diferentes subtipos de CM. No obstante, dada su baja estabilidad en el torrente sanguíneo, se ha evaluado su el valor del miARN circulante como biomarcadores, teniendo una potencial relevancia clínica en la detección temprana no invasiva del CM (4).

4.2. MiARN como potenciales biomarcadores en cáncer de mama.

En los últimos años, la detección de miR-21, miR-221 y miR-145 en suero o plasma, ha

surgido como una prometedora vía de detección de pacientes con CM (5). Así, miR-21 y/o miR-221 posee una mayor sensibilidad diagnóstica que el antígeno carcinoembrionario (CA 15-3 y CEA) para todos los estadios del cáncer, discriminan entre CM, pacientes con tumores benignos e individuos sanos y mejora la detección del subtipo triple negativo frente a controles sanos (24, 25). Además, también se ha observado alta expresión de miR-21 en exosomas derivados de plasma de CM, y la combinación exosomal de miR-21 y miR-1246 ha permitido generar un modelo diagnóstico (26,27). Por otra parte, miR-145, a pesar de los resultados contradictorios (25), se sigue considerando de utilidad potencial como marcador individual o combinado en la detección de CM. Las determinaciones de miR145 junto a miR-451 y de miR-145, miR-155 y miR-382 (5) en plasma y suero, respectivamente, demostraron una alta capacidad de discriminación entre CM e individuos sanos.

Shimomura y cols. (28) analizaron los perfiles de miARN en 4630 muestras de suero, concluyendo que la determinación de un panel de cinco miARN (miR-1246, miR-1307-3p, miR-4634, miR-6861-5p y miR-6876-5p) poseían alto valor diagnóstico para el CM incluidos los casos en estadios tempranos. No obstante, estos resultados se basaron en microarrays, validándose sólo miR-1246 por qPCR. Previamente, Zhang y cols. (29) validaron UN panel de miRNA diagnóstico de CM que incluía a miR-29c, miR-199a y miR424 e incluso el uso individual de miR-214. La detección de miARN en plasma ya sea de un solo marcador (miR-199a-5p) o de paneles de marcadores (miR-127-3p, miR-148b, miR-376a, miR-376c, miR-409-3p, miR-652 y miR80 y miR-16, let7d, miR-103, miR-107, miR-148a, let -7i, miR-19b y miR-22) también ha sido propuesta para detectar CM (30), especialmente para el CM triple negativo, para la detección temprana del CM, y como herramienta de screening que mejora los

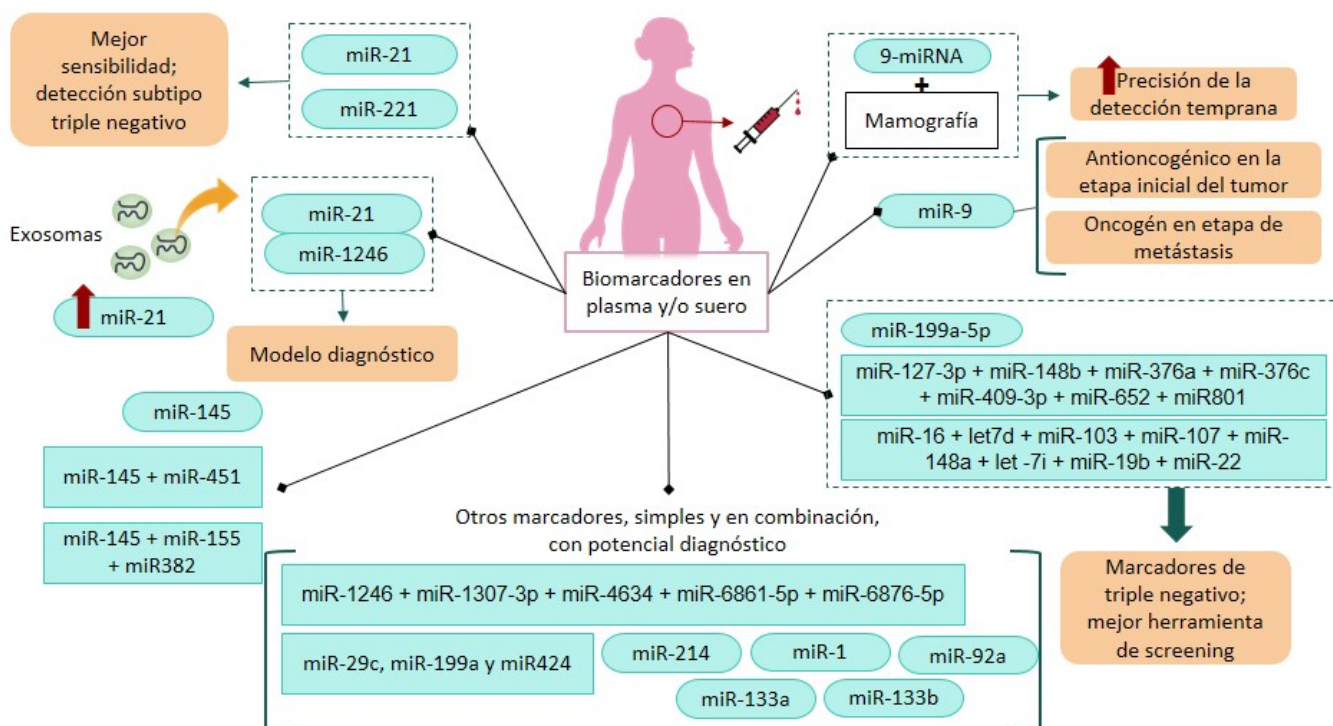


Figura 2. Esquema representativo de los principales miRNA en cáncer de mama en fase de investigación para su uso en diagnóstico, detección de diferentes subtipos, detección temprana y screening.

resultados de la mamografía y la determinación de CA 15-3. Cada vez hay más estudios que han confirmado la expresión anormal de miR-9 en CM (31). MiR-9 juega un papel antioncogénico en la proliferación del CM, inhibiendo la aparición de CM en la etapa inicial del mismo, y papel opuesto en la metástasis del CM, donde implica una mayor malignidad. Por lo tanto, el nivel de miR-9 y su papel en el CM depende de la etapa del CM y es un prometedor biomarcador para esta patología (31).

Algunos estudios demuestran que el miARN posee una mayor sensibilidad y especificidad que CA15-3 y PSA (32) Por otra parte, la metilación del promotor del gen APC y 14-3-3 σ fueron más específicas que el miARN, pero con muy baja sensibilidad (32).

5. Biomarcadores basados en proteínas

Las proteínas circulantes han sido objeto de atención como biomarcador para la detección de CM para su detección temprana y para la evaluación de la eficacia de los fármacos. El desarrollo de biomarcadores clínicos utilizando estrategias proteómicas se basa en diferentes enfoques (electroforesis en gel de diferencia 2D, microarrays de proteínas y espectometría de masas, etc) y requiere verificación y validación en grupos amplios de pacientes para su potencial aplicación clínica (33). El método basado en la monitorización de reacción seleccionada (SRM) se piensa que reemplazará al tradicional Western blot, como el nuevo estándar de oro para la verificación de la expresión de proteínas. Clásicamente, el antígeno carcinoembrionario en sangre (CA 15-3 y el CEA) se usa en el seguimiento postoperatorio tras el tratamiento primario de CM y en la monitorización de la quimioterapia/endocrinoterapia en enfermedad avanzada, si bien, la mayoría de expertos no recomiendan su uso para el seguimiento de pacientes asintomáticos tras el tratamiento primario del CM. Sólo se considera su uso

como ayuda de monitorización del tratamiento de pacientes con enfermedad no evaluable (no determinada mediante técnicas de imagen estándar) (34). Ishibashi y cols. (35) han propuesto el uso del panel de los factores trébol TFF1, TFF2 y TFF3 como biomarcadores para la detección de CM debido a su capacidad discriminativa y expresión diferencial. Las mucinas (MUC) y la proteína de filamentos intermedios (CKs) son conocidas biomarcadores de CM. Mientras que CA 15-3 permite el seguimiento del tratamiento (5), CK 8, 18 y 19 son potenciales marcadores (aunque de baja sensibilidad) para estadios tempranos de CM. La relación entre la concentración del antígeno de membrana del epitelio sérico (EMA, también conocido como MUC1) y CK1 se han sugerido como potencial marcador para la detección temprana de CM con capacidad superior a CA 15-3. Algunas proteínas, como la adiponectina sérica, parece inversamente asociada con el CM, de forma que su disminución en mujeres premenopáusicas se asoció con un mayor riesgo de C (36). Otros biomarcadores de proteínas circulantes detectados con ELISA incluyen la pleiotropina (PTN) (37) y las combinaciones proteína epididimal humana 4 (HE4) con miR-127-3p (38), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) con CA 15-3 (38) y "human anterior gradient" (AGR) 2 con AGR3 (39). Para la identificación del CM triple negativo se ha propuesto a la apolipoproteína CI (apoC-I) (40).

6. Biomarcadores basados en exosomas

Los exosomas son pequeñas vesículas de membrana de 30 a 100 nm que contienen RNm, miARN y proteínas que a menudo se empaquetan selectivamente a partir del contenido celular (41). La membrana del exosoma contiene proteínas como moléculas inmunorreguladoras (MHC I y II), proteínas transmembrana (anexinas y proteínas Rab) y de adhesión (integrinas y tetraspaninas) e incluso lípidos (colesterol, esfingolípidos,

ceramida y glicerofosfolípidos). Los exosomas son secretados activamente por células tumorales y por las células adyacentes en el microambiente del tumor, vitales para promover la angiogénesis, metástasis e inmunosupresión. Al transferir proteínas, lípidos y carga de ARN, son capaces de modular la comunicación intercelular en el microambiente tumoral, teniendo un papel importante en el desarrollo y progresión del cáncer. Estas estructuras se pueden aislar mediante ultracentrifugación, ultrafiltración y la inmunoprecipitación, siendo la microscopía electrónica de transmisión la más usada para identificarlos (41). Hay evidencias de que los exosomas tienen función como biomarcadores en CM (42). Además, algunos estudios han demostrado que los miRNA y las proteínas en los exosomas intervienen en la farmacoresistencia. Los exosomas derivados del plasma en los que aparece la proteína del locus-1 derivada del endotelio (Del-1), usado para detectar pacientes con CM en estadio temprano (43), y la fibronectina (FN) (44), son prometedores candidatos a biomarcadores. Por otra parte, biomarcadores basados en exosomas con HER2, CD47, Del-1, miR-1246 y miR-21 están significativamente elevados en CM (43). Algunos exosomas portadores de GSTP1 y TRPC5 se han relacionado con la resistencia a quimioterapia, los portadores de TRPC5, y ciertos ARNm (NANOG, NEUROD1, HTR7, KISS1R, HOXC) se han correlacionado con supervivencia libre de progresión y global y algunas proteínas exosomales (HER2, KDR, CD49d, CXCR4 y CD44) así como miARN (miR-340-5p, miR-17-5p, miR-130a-3p, miR-93-5p) se han asociado con la recurrencia o metástasis (43). Otros autores describen las funciones de los exosomas en la progresión del cáncer, la metástasis y la resistencia a los fármacos en este tipo de CM (45).

7. Biomarcadores basados en metabolómica

Las células cancerosas presentan procesos

celulares significativamente alterados que generan modulación en los metabolitos que pueden ser usadas para el diagnóstico del cáncer (46). Además, la respuesta del huésped frente al tumor también puede resultar en una huella metabólica medible. Por tanto, la metabolómica puede aportar información crítica acerca de la presencia de tumor y de un panel de biomarcadores de predicción, respuesta, o progresión de la enfermedad (47). Aunque existen muchos desafíos para la integración de la metabolómica con otras áreas "ómicas", la metabolómica jugará un papel importante en el diagnóstico molecular del cáncer (47). La detección de metabolitos en suero ya sea mediante cromatografía y electroforesis capilar o mediante espectrometría de masas (48), ha dado un excelente rendimiento para la detección temprana o diagnóstico del CM (49). El CM presenta diferencias metabólicas entre sus subtipos moleculares lo que ofrece una vía para identificarlos e identificar nuevas estrategias de tratamiento. Así, el subtipo luminal B depende preferentemente de los ácidos grasos para la obtención de energía, mientras que HER2 y basal-like muestran preferentemente alteraciones en metabolismo de la glucosa/glutamina (50). Recientemente, el ácido caproico (también la estearamida, taurina y ácido linoleico) en plasma exhibió fuertes asociaciones con CM y buena capacidad discriminativa entre pacientes y controles sanos (51). Otros biomarcadores metabólicos como el ácido palmítico, el ácido linoleico y el ácido esteárico se postulan como nuevos biomarcadores de CM (52). Park y cols. (53) identificaron cuatro biomarcadores (L-octanoilcarnitina, 5-oxoprolina, hipoxantina y ácido docosahexaenoico) para el CM, siendo la L-octanoilcarnitina el mejor biomarcador diagnóstico para esta enfermedad. Li y cols. (54) detectaron 77 metabolitos alterados en muestras de suero de CM y un panel de firmas metabólicas correlacionadas con la tasa de supervivencia a 5 años de los pacientes con CM triple negativo.

8. Biomarcadores basados en autoanticuerpos

La evidencia de autoanticuerpos circulantes en el suero de pacientes con cáncer ha llevado a estudiarlos como biomarcadores. La detección de autoanticuerpos antes del diagnóstico clínico de enfermedad, observado en enfermedades autoinmunes sistémicas y síndromes paraneoplásicos, sugiere la posibilidad de que la detección de autoanticuerpos también podría preceder al diagnóstico clínico de CM (5). Estos autoanticuerpos se generan frente a proteínas codificadas por oncogenes y genes supresores de tumores. Durante la última década, se han desarrollado y utilizado varias tecnologías de alto rendimiento para el descubrimiento y detección de autoanticuerpos entre las que se encuentran el análisis serológico de antígenos tumorales mediante clonación de expresión de ADNc recombinante (SEREX), visualización de fagos, análisis serológico del proteoma (SERPA), perfil de proteínas de afinidad múltiple (MAPP), microarrays de proteínas y sensores nanoplásmicos (55). En este contexto, autoanticuerpos contra HER-2/neu han sido detectados en la etapa temprana del CM y han sido correlacionaron

con su expresión (HER-2 / neu positivo) (55). También se identificaron autoanticuerpos contra p53 en pacientes con CM en todas las etapas de la enfermedad. Los anticuerpos anti-retrovirus-K endógenos en suero (HML-2) se han encontrado significativamente elevados en el carcinoma ductal invasivo o carcinoma ductal in situ (CDIS) (5). Para mejorar la precisión del diagnóstico, se ha asociado la detección de nuevos autoanticuerpos a los marcadores tumorales clásicos. Un ejemplo es la medición combinada de CA 15-3 con autoanticuerpos séricos contra ribonucleoproteína F heterogénea nuclear (hnRNPF) y cadena pesada de ferritina (FTH1). Dicha medición produjo un mayor rendimiento diagnóstico, sensibilidad y especificidad, en comparación con marcadores individuales (5). Estudios tipo SEREX asociaron autoantígenos séricos como galectina 3 (LGALS3), prohibitina 2 (PHB2), MUC1 y glicerol quinasa 2 (GK2) con CA 15-3 para aumentar el potencial diagnóstico (56). SEREX también se utilizó para identificar antígenos como la proteína de reparación de rotura de doble cadena RAD50 (RAD50), el regulador de polaridad celular de la familia PAR-3 (PARD3), la fosfoproteína 1 secretada (SPP1), la proteína de unión SAP 30 (SAP30BP), miembro de la

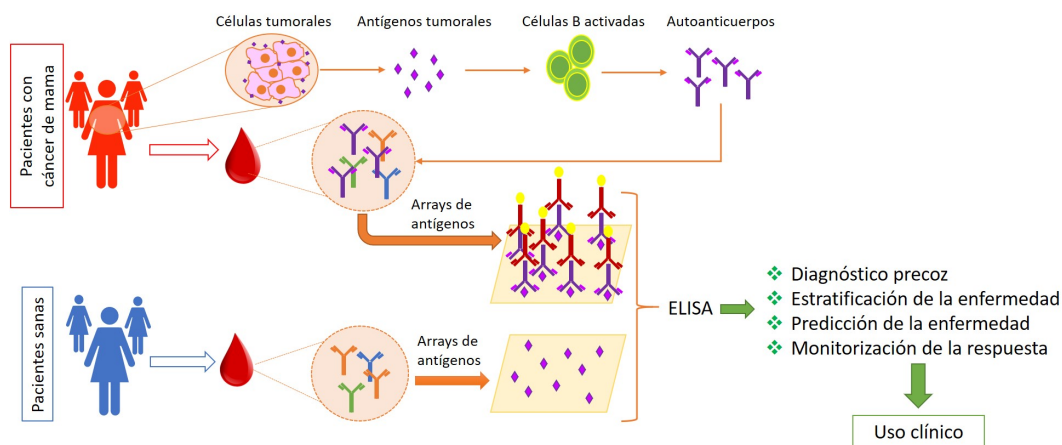


Figura 3. Esquema representativo de la detección de autoanticuerpos como biomarcadores de CM. Los antígenos de las células tumorales inducen la activación de las células B durante la respuesta inmunitaria provocando la amplificación de autoanticuerpos. Estos pueden ser detectados a partir de una gota de sangre mediante arrays de proteínas en los que se unen específicamente a los antígenos de las células tumorales de CM. Los autoanticuerpos seleccionados mediante array son validados en grupos de pacientes mediante la técnica ELISA. Esta técnica se emplearía en clínica para el diagnóstico precoz, la estratificación de la enfermedad, predicción de la progresión de la enfermedad o monitorización de las respuestas a los medicamentos.

familia de la quinesina 15 (NY-BR-62) y NY-CO-58 que podrían discriminar a los pacientes de CM y controles sanos (57). Gupta y cols. (58) describe cómo el proteoma también se ha utilizado para descubrir un solo marcador (i.e. autoanticuerpo contra timidilato sintasa (TYMS)) y paneles de marcadores (autoanticuerpos contra LGALS3, quinasa 2 activada por p21 (PAK2), PHB2, receptor para C quinasa 1 activada (RACK1) y tipo RuvB 1 (RUVBL1) con este mismo fin. Este último panel permite identificar pacientes con CM primario en etapa temprana con ganglios negativos por lo que es una probable herramienta de detección de CM (invasivos y preinvasivos) especialmente para mujeres con alta densidad mamaria. Finalmente, Pagaza-Straffon y cols. (59) encuentran bajos niveles de autoanticuerpos individuales en una cohorte amplia de CM que además parece verse afectada por factores geográficos y genéticos.

9. Otros biomarcadores

La lipidómica es un método emergente para la caracterización tumoral. Hay creciente evidencia de que la reprogramación del metabolismo de los lípidos está implicada en la diferenciación celular y por tanto en la posibilidad de transformación maligna. Chen y cols. (60) validaron un panel de 15 tipos de lípidos en plasma para diferenciar los casos de CM en etapa temprana de aquellos con lesiones mamarias benignas. Algunos paneles de cinco lípidos (C 16: 1, C 18: 3, C 18: 2, C 20: 4 y C 22: 6) parecen asociarse a CM en estadio temprano (5). Recientemente, se ha descrito la presencia de lípidos altamente saturados, así como moléculas antioxidantes en CM invasivo. Además, los subtipos luminal B y triple negativo mostraron perfiles de lípidos más complejos en comparación con luminal A y HER2 (61). También las fosfatidilcolinas, los triglicéridos y los diglicéridos mostraron una expresión más baja y la fosfatidilserina más alta en CM en comparación con tejidos sanos (62).

La expresión de genes como marcadores en pacientes con metástasis de CM también ha sido usada. Una disminución de la expresión del gen COX2 en el tejido metastásico y modulaciones en p53, ER1, ERB-B2, TNF y WNT, han sido propuestas en este sentido. La expresión del gen RRM2 disminuye en metástasis en comparación con CM primario y podría sugerirse como un marcador para seguir la evolución del CM. Este estudio también muestra que MMP1, VCAM1, FZD3, VEGFC, FOXM1 y MUC1 pueden ser marcadores tempranos de CM (63). Por último, un metanálisis reciente concluye que el PSA sérico podría ser un biomarcador útil para el diagnóstico de CM para el diagnóstico diferencial entre CM y tumores benignos de mama (64).

10. Conclusiones

En los últimos años se ha producido un gran avance en el descubrimiento de nuevos BS con utilidad potencial en el campo del diagnóstico precoz, pronóstico y respuesta al tratamiento de los pacientes con CM. Los BS más descritos para CM se basan en el ADN, miARN, proteínas, metabolitos, exosomas y lípidos. Los relacionados con el ADN tratan de analizar mutaciones genéticas y epigenéticas y son muy útiles para el diagnóstico precoz y el pronóstico, pudiendo tener un papel en la personalización del tratamiento. La desregulación de miARNs puede usarse como marcador biológico especialmente en cluster, aunque se precisan más investigaciones para su aplicación clínica. Las proteínas en sangre de pacientes con CM pueden ser potenciales biomarcadores especialmente para diagnóstico. Proteínas como Ca 15.3 y CEA son frecuentemente usados, pero su papel no está claramente dilucidado. El examen integral y sistémico del proteoma sanguíneo permitirá nuevos avances en la detección y seguimiento del CM. Otros marcadores como los de exosomas pueden utilizarse para el diagnóstico precoz y el pronóstico de pacientes con CM en la clínica y pueden ser

potenciales portadores de fármacos hacia las células cancerosas. Los biomarcadores basados en metabolómica, lipidómica, y autoanticuerpos son novedosos y precisan de nuevos ensayos. Del avance en la tecnología de detección de estas diferentes moléculas derivará el hallazgo de nuevos biomarcadores que mejoren en pronóstico de los pacientes con CM.

11. Referencias

1. Seom.org. https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/Cifras_del_cancer_2020.pdf
2. Oncoguía SEGO: Cáncer infiltrante de mama. Guías de práctica clínica en cáncer ginecológico y mamario. Edt. SEGO, 2017.
3. Sesp.m.es. <https://www.sespm.es/wp-content/uploads/2020/02/MANUAL-SESPM-2019-web-prottegido.pdf>
4. Moy B, Specht MC, Lanuti M, Rafferty EA, Lerwill MF. Case records of the Massachusetts General Hospital. Case 1-2015. A 66-year-old woman with metastatic breast cancer after endocrine therapy. *N Engl J Med.* 2015;372(2):162–70.
5. DeMichele A, Yee D, Esserman L. Mechanisms of resistance to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *N Engl J Med.* 2017;377(23):2287–9.
4. Tahiri A, Aure MR, Kristensen VN. MicroRNA networks in breast cancer cells. *Methods Mol Biol.* 2018;1711:55–81.
5. Loke SY, Lee ASG. The future of blood-based biomarkers for the early detection of breast cancer. *Eur J Cancer.* 2018;92:54–68.
6. Singhal SK, Usmani N, Michiels S, Metzger-Filho O, Saini KS, Kovalchuk O, et al. Towards understanding the breast cancer epigenome: a comparison of genome-wide DNA methylation and gene expression data. *Oncotarget.* 2016;7(3):3002–17.
7. Ye M, Huang T, Ying Y, Li J, Yang P, Ni C, et al. Detection of 14-3-3 sigma (σ) promoter methylation as a noninvasive biomarker using blood samples for breast cancer diagnosis. *Oncotarget.* 2017;8(6):9230–42.
8. Swellam M, Abdelmaksoud MDE, Sayed Mahmoud M, Ramadan A, Abdel-Moneem W, Hefny MM. Aberrant methylation of APC and RAR β 2 genes in breast cancer patients: Aberrant Methylated Genes in Breast Cancer. *IUBMB Life.* 2015;67(1):61–8.
9. Qian X, Ruan L. APC gene promoter aberrant methylation in serum as a biomarker for breast cancer diagnosis: A meta-analysis. *Thorac Cancer.* 2018;9(2):284–90.
10. Yang R, Stöcker S, Schott S, Heil J, Marme F, Cuk K, et al. The association between breast cancer and S100P methylation in peripheral blood by multicenter case-control studies. *Carcinogenesis.* 2017;38 (3):312–20.
11. Yang R, Pfütze K, Zucknick M, Sutter C, Wappenschmidt B, Marme F, et al. DNA methylation array analyses identified breast cancer-associated HYAL2 methylation in peripheral blood: HYAL2 methylation in the peripheral blood. *Int J Cancer.* 2015;136(8):1845–55.
12. An N, Shi Y, Ye P, Pan Z, Long X. Association between MGMT promoter methylation and breast cancer: A meta-analysis. *Cell Physiol Biochem.* 2017;42(6):2430–40
13. Lu D-G, Ma Y-M, Zhu A-J, Han Y-W. An early biomarker and potential therapeutic target of RUNX 3 hypermethylation in breast cancer, a system review and meta-analysis. *Oncotarget.* 2017;8(13):22166–74
14. De Ruijter TC, van der Heide F, Smits KM, Aarts MJ, van Engeland M, Heijnen VCG. Prognostic DNA methylation markers for hormone receptor breast cancer: a systematic review. *Breast Cancer Res.* 2020;22(1):13.
15. Sheng X, Guo Y, Lu Y. Prognostic role of methylated GSTP1, p16, ESR1 and PITX2 in patients with breast cancer: A systematic meta-analysis under the guideline of PRISMA. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(28):e7476

16. Johansson A, Palli D, Masala G, Grioni S, Agnoli C, Tumino R, et al. Epigenome-wide association study for lifetime estrogen exposure identifies an epigenetic signature associated with breast cancer risk. *Clin Epigenetics*. 2019;11(1):66.
17. Cordero F, Ferrero G, Polidoro S, Fiorito G, Campanella G, Sacerdote C, et al. Differentially methylated microRNAs in prediagnostic samples of subjects who developed breast cancer in the European Prospective Investigation into Nutrition and Cancer (EPIC-Italy) cohort. *Carcinogenesis*. 2015;36(10):1144–53.
18. Uehiro N, Sato F, Pu F, Tanaka S, Kawashima M, Kawaguchi K, et al. Circulating cell-free DNA-based epigenetic assay can detect early breast cancer. *Breast Cancer Res [Internet]*. 2016;18(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13058-016-0788-z>
19. Lee J-H, Jeong H, Choi J-W, Oh HE, Kim Y-S. Liquid biopsy prediction of axillary lymph node metastasis, cancer recurrence, and patient survival in breast cancer: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(42):e12862.
20. Yang J, Cheng L, Zhang J, Chen L, Wang D, Guo X, et al. Predictive value of circulating cell-free DNA in the survival of breast cancer patients: A systemic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(28):e11417.
21. Zhou Y, Wang C, Zhu H, Lin Y, Pan B, Zhang X, et al. Diagnostic accuracy of PIK3CA mutation detection by circulating free DNA in breast cancer: A meta-analysis of diagnostic test accuracy. *PLoS One*. 2016;11(6):e0158143
22. Li M, Wang C, Yu B, Zhang X, Shi F, Liu X. Diagnostic value of RASSF1A methylation for breast cancer: a meta-analysis. *Biosci Rep*. 2019;39(6):BSR20190923
23. Amorim M, Salta S, Henrique R, Jerónimo C. Decoding the usefulness of non-coding RNAs as breast cancer markers. *J Transl Med*. 2016;14:265.
24. Motawi TMK, Sadik NAH, Shaker OG, El Masry MR, Mohareb F. Study of microRNAs-21/221 as potential breast cancer biomarkers in Egyptian women. *Gene*. 2016;590(2):210–9.
25. Thakur S, Grover RK, Gupta S, Yadav AK, Das BC. Identification of specific miRNA signature in paired Sera and tissue samples of Indian women with triple negative breast cancer. *PLoS One*. 2016;11(7):e0158946.
26. Hannafon BN, Trigoso YD, Calloway CL, Zhao YD, Lum DH, Welm AL, et al. Plasma exosome microRNAs are indicative of breast cancer. *Breast Cancer Res [Internet]*. 2016;18(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13058-016-0753-x>
27. Li S, Yang X, Yang J, Zhen J, Zhang D. Serum microRNA-21 as a potential diagnostic biomarker for breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin Exp Med*. 2016;16(1):29–35
28. Shimomura A, Shiino S, Kawachi J, Takizawa S, Sakamoto H, Matsuzaki J, et al. Novel combination of serum microRNA for detecting breast cancer in the early stage. *Cancer Sci*. 2016;107(3):326–34.
29. Zhang L, Xu Y, Jin X, Wang Z, Wu Y, Zhao D, et al. A circulating miRNA signature as a diagnostic biomarker for non-invasive early detection of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2015;154(2):423–34.
30. Frères P, Wenric S, Boukerroucha M, Fasquelle C, Thiry J, Bovy N, et al. Circulating microRNA-based screening tool for breast cancer. *Oncotarget*. 2016;7(5):5416–28.
31. Li X, Zeng Z, Wang J, Wu Y, Chen W, Zheng L, et al. MicroRNA-9 and breast cancer. *Biomed Pharmacother*. 2020;122(109687):109687
32. Gao Y, Liu M, Shi S, Sun Y, Li M, Zhang M, et al. Diagnostic value of seven biomarkers for breast cancer: an overview with evidence mapping and indirect comparisons of diagnostic test accuracy. *Clin Exp Med*. 2020;20(1):97–108.
33. Núñez C. Blood-based protein

- biomarkers in breast cancer. *Clin Chim Acta*. 2019;490:113–27.
34. Duffy MJ, McDermott EW, Crown J. Blood-based biomarkers in breast cancer: From proteins to circulating tumor cells to circulating tumor DNA. *Tumour Biol*. 2018;40(5):1010428318776169.
35. Ishibashi Y, Ohtsu H, Ikemura M, Kikuchi Y, Niwa T, Nishioka K, et al. Serum TFF1 and TFF3 but not TFF2 are higher in women with breast cancer than in women without breast cancer. *Sci Rep*. 2017;7(1):4846.
36. Yu Z, Tang S, Ma H, Duan H, Zeng Y. Association of serum adiponectin with breast cancer: A meta-analysis of 27 case-control studies. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(6):e14359.
37. Ma J, Kong Y, Nan H, Qu S, Fu X, Jiang L, et al. Pleiotrophin as a potential biomarker in breast cancer patients. *Clin Chim Acta*. 2017;466:6–12.
38. Lu M, Ju S, Shen X, Wang X, Jing R, Yang C, et al. Combined detection of plasma miR-127-3p and HE4 improves the diagnostic efficacy of breast cancer. *Cancer Biomark*. 2017;18(2):143–8.
39. Garczyk S, von Stillfried S, Antonopoulos W, Hartmann A, Schrauder MG, Fasching PA, et al. AGR3 in breast cancer: prognostic impact and suitable serum-based biomarker for early cancer detection. *PLoS One*. 2015;10(4):e0122106
40. Song D, Yue L, Zhang J, Ma S, Zhao W, Guo F, et al. Diagnostic and prognostic significance of serum apolipoprotein C-I in triple-negative breast cancer based on mass spectrometry. *Cancer Biol Ther*. 2016;17(6):635–47.
41. Wu C-Y, Du S-L, Zhang J, Liang A-L, Liu Y-J. Exosomes and breast cancer: a comprehensive review of novel therapeutic strategies from diagnosis to treatment. *Cancer Gene Ther*. 2017;24(1):6–12.
42. Wang M, Ji S, Shao G, Zhang J, Zhao K, Wang Z, et al. Effect of exosome biomarkers for diagnosis and prognosis of breast cancer patients. *Clin Transl Oncol*. 2018;20 (7):906–11.
43. Moon P-G, Lee J-E, Cho Y-E, Lee SJ, Jung JH, Chae YS, et al. Identification of developmental endothelial locus-1 on circulating extracellular vesicles as a novel biomarker for early breast cancer detection. *Clin Cancer Res*. 2016;22(7):1757–66.
44. Moon P-G, Lee J-E, Cho Y-E, Lee SJ, Chae YS, Jung JH, et al. Fibronectin on circulating extracellular vesicles as a liquid biopsy to detect breast cancer. *Oncotarget*. 2016;7(26):40189–99.
45. Goh CY, Wyse C, Ho M, O'Beirne E, Howard J, Lindsay S, et al. Exosomes in triple negative breast cancer: Garbage disposals or Trojan horses? *Cancer Lett*. 2020;473:90–7
46. Hart CD, Tenori L, Luchinat C, Di Leo A. Metabolomics in breast cancer: Current status and perspectives. *Adv Exp Med Biol*. 2016;882:217–34.
47. Cheung PK, Ma MH, Tse HF, Yeung KF, Tsang HF, Chu MKM, et al. The applications of metabolomics in the molecular diagnostics of cancer. *Expert Rev Mol Diagn*. 2019;19(9):785–93.
48. Bitencourt AGV, Goldberg J, Pinker K, Thakur SB. Clinical applications of breast cancer metabolomics using high-resolution magic angle spinning proton magnetic resonance spectroscopy (HRMAS 1H MRS): systematic scoping review. *Metabolomics*. 2019;15(11):148.
49. Hadi NI, Jamal Q, Iqbal A, Shaikh F, Somroo S, Musharraf SG. Serum metabolomic profiles for breast cancer diagnosis, grading and staging by gas chromatography-mass spectrometry. *Sci Rep*. 2017;7(1):1715.
50. Cappelletti V, Iorio E, Miodini P, Silvestri M, Dugo M, Daidone MG. Metabolic footprints and molecular subtypes in breast cancer. *Dis Markers*. 2017;2017:7687851.
51. Jové M, Collado R, Quiles JL, Ramírez-Tortosa M-C, Sol J, Ruiz-Sanjuan M, et al. A plasma metabolomic signature discloses human breast cancer. *Oncotarget*. 2017;8(12):19522–33.

52. Yang L, Wang Y, Cai H, Wang S, Shen Y, Ke C. Application of metabolomics in the diagnosis of breast cancer: a systematic review. *J Cancer*. 2020;11(9):2540–51.
53. Park J, Shin Y, Kim TH, Kim D-H, Lee A. Plasma metabolites as possible biomarkers for diagnosis of breast cancer. *PLoS One*. 2019;14(12):e0225129.
54. Li L, Zheng X, Zhou Q, Villanueva N, Nian W, Liu X, et al. Metabolomics-based discovery of molecular signatures for triple negative breast cancer in Asian female population. *Sci Rep*. 2020;10(1):370.
55. Qiu J, Keyser B, Lin Z-T, Wu T. Autoantibodies as potential biomarkers in breast cancer. *Biosensors (Basel)*. 2018;8(3). <http://dx.doi.org/10.3390/bios8030067>
56. Zuo X, Chen L, Liu L, Zhang Z, Zhang X, Yu Q, et al. Identification of a panel of complex autoantigens (LGALS3, PHB2, MUC1, and GK2) in combination with CA15-3 for the diagnosis of early-stage breast cancer. *Tumour Biol*. 2016;37(1):1309–17
57. Kostianets O, Shyyan M, Antoniuk SV, Filonenko V, Kiyamova R. Panel of SEREX-defined antigens for breast cancer autoantibodies profile detection. *Biomarkers*. 2017;22(2):149–56
58. Gupta P, Suman S, Mishra M, Mishra S, Srivastava N, Kumar V, et al. Autoantibodies against TYMS and PDLIM1 proteins detected as circulatory signatures in Indian breast cancer patients. *Proteomics Clin Appl*. 2016;10(5):564–73
59. Pagaza-Straffon C, Marchat LA, Herrera L, Díaz-Chávez J, Avante MG, Rodríguez YP, et al. Evaluation of a panel of tumor-associated antigens in breast cancer. *Cancer Biomark*. 2020;27(2):207–11.
60. Chen X, Chen H, Dai M, Ai J, Li Y, Mahon B, et al. Plasma lipidomics profiling identified lipid biomarkers in distinguishing early-stage breast cancer from benign lesions. *Oncotarget*. 2016;7(24):36622–31.
61. Santoro AL, Drummond RD, Silva IT, Ferreira SS, Juliano L, Vendramini PH, et al. In situ DESI-MSI lipidomic profiles of breast cancer molecular subtypes and precursor lesions. *Cancer Res*. 2020;80(6):1246–57.
62. King AM, Trengove RD, Mullin LG, Rainville PD, Isaac G, Plumb RS, et al. Rapid profiling method for the analysis of lipids in human plasma using ion mobility enabled-reversed phase-ultra high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2020;1611(460597):460597
63. Bell R, Barraclough R, Vasieva O. Gene expression meta-analysis of potential metastatic breast cancer markers. *Curr Mol Med*. 2017;17(3):200–10.
64. Li H-F, Xie Q, Nie Q-W, Ye X. Prostate specific antigen as a biomarker for breast cancer: a meta-analysis study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018;22(13):4188–95